POLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DER ASCORBINSÄUREOXYDATION DURCH CHINONE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Kurt Seelert
aus Berlin

196

Druck:

Ernst - Reuter - Gesellschaft
der Förderer und Freunde der Freien Universität Berlin e.V.

Dissertations-Druckstelle

Berlin - Dahlem, Garystraße 45, Tel.: 76 52 61, App. 668

POLAROGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DER ASCORBINSÄUREOXYDATION DURCH CHINONE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Kurt Seelert
aus Berlin

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

1. Referent: Professor Dr. G. Schenck
2. Referent: Professor Dr. K. Vetter

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Juli 1961

Tag der Promotion: - 9. Dez. 1961

Diese Arbeit wurde unter der Anleitung von Herrn Professor Dr. G. Schenck im Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin durchgeführt.

Meinem hochverehrten Lehrer
Herrn Professor Dr. G. Schenck danke ich herzlich für die Anregung zu diesen Untersuchungen und für die mir jederzeit gewährte wertvolle Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit. Außerdem danke ich für die großzügige Förderung meiner wissenschaftlichen Fortbildung.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für den als Leihgabe zur Verfügung gestellten Polarographen.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A.	Einführung und Problemstellung	7
B.	Experimenteller Teil	14
	I. Polarographische Versuchsanordnung	14
	II. Die Reaktionskomponenten	17
	1. Herstellung und Reinheit der verwendeten Chemikalien	17
	2. Gehaltsbestimmungen	18
	3. Die Reaktionslösungen	19
	4. Polarographisches Verhalten der Reaktionskomponenten	20
	5. Beständigkeit der Reaktionskomponenten	23
	6. Eichkurven	25
	III. Untersuchungen der Stöchiometrie	28
	1. Polarometrische Titrationen	28
	2. Reaktionen mit geringem Chinonüberschuß	32
	3. Reaktionen mit geringem Ascorbinsäureüberschuß	37
	IV. Untersuchungen der Kinetik	39
	1. Reaktionen mit großem Ascorbinsäureüberschuß	39
	a. Ohne besondere Zusätze	39
	b. Der Einfluß von Kupferionen und Äthylendiamintetraessigsäure auf die Reaktionsgeschwindigkeit	42
	c. Der Einfluß von metallischem Quecksilber, Glas und Luft auf die Reaktionsgeschwindigkeit	46
	d. Der Einfluß von Reaktionsendprodukten, Pufferkonzentrationen und Stearonaphthalinsulfonsäure auf die Reaktionsgeschwindigkeit	47
	e. Der Einfluß der Ascorbinsäurekonzentration auf die Reaktionsgeschwindigkeit	49

Seite

2. Reaktionen mit geringem Überschuß eines Reaktionspartners 55

a. Ascorbinsäure im Überschuß 55

b. Chinon im Überschuß 59

3. Ascorbinsäure und Chinon im äquimolaren Verhältnis 59

4. Die pH-Abhängigkeit der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen 61

C. Diskussion der Versuchsergebnisse 64

D. Zusammenfassung 69

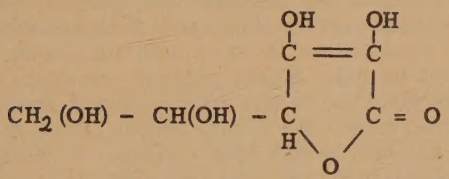
E. Literaturverzeichnis 73

Lebenslauf 77

A. Einführung und Problemstellung

L-Ascorbinsäure gehört als Vitamin C zu den unentbehrlichen Bestandteilen der menschlichen Ernährung. Obwohl sie im Stoffwechselgeschehen der tierischen und pflanzlichen Zellen eine wichtige Rolle spielt, weiß man wenig über ihre eigentlichen Funktionen (1). Bekannt sind eine Reihe von Wirkungen auf einzelne physiologische Prozesse, jedoch ist es fraglich, ob diese Effekte zu ihren Hauptaufgaben im Stoffwechsel gehören (2). Mit Sicherheit kann man annehmen, daß L-Ascorbinsäure als Wasserstoffdonator fungiert und bei bedeutenden Redoxvorgängen mitwirkt.

Die Ascorbinsäure (I) gehört zu einer Gruppe organischer Verbindungen, die die Bezeichnung "Reduktone" trägt. Es sind dies mehr oder weniger stark reduzierende Stoffe, deren Moleküle eine Kohlenstoff-Doppelbindung besitzen, die beidseitig von OH-, SH- oder NH_2 -Gruppen flankiert ist (3).

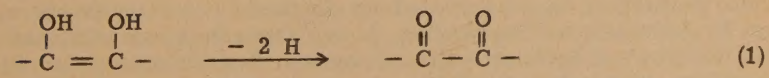


(I)

Die auch als Endiolgruppe bezeichnete Atomanordnung $-\overset{OH}{\overset{|}{C}}=\overset{OH}{\overset{|}{C}}-$ ist bei der Ascorbinsäure Bestandteil eines Lactonringes. Die Seitenkette läßt eine Verwandtschaft mit den Kohlenhydraten vermuten.

Die in unmittelbarer Nachbarschaft zur Endiolgruppe sitzende Ketogruppe verstärkt die Reduktionskraft des Moleküls. Verbindungen mit der Atomanordnung $-\overset{OH}{\overset{|}{C}}=\overset{OH}{\overset{|}{C}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-$ haben einen ausgesprochenen Säurecharakter und reduzieren im Gegensatz zu den normalen Reduktonen sogar in saurer Lösung. Nach H. v. EULER (4) führen sie deshalb auch die Bezeichnung "aci-Reduktone".

Bei der Oxydation gehen die Endiole unter Abgabe von zwei H-Atomen in 1. 2-Diketone über:



(1)

Außerhalb des lebenden Organismus kommt die Dehydrierung der Ascorbinsäure zur entsprechenden Dehydroascorbinsäure im allgemeinen einer Aufhebung der Vitaminwirkung gleich, da die an sich physiologisch noch wirksame Dehydroascorbinsäure (5) langsam in physiologisch unwirksame Abbauprodukte übergeht (6, 7).

Als starkes Reduktionsmittel wird Ascorbinsäure von vielen Verbindungen oxydiert. Zu den wichtigsten anorganischen Stoffen, die zur Dehydrierung in der Lage sind, gehören die freien Halogene, Edelmetallkationen, oxydierende Anionen und molekularer Sauerstoff. Während Ascorbinsäure in kristalliner Form gegen Luft weitgehend beständig ist, unterliegt sie in wäßriger Lösung leicht der Autoxydation, der Oxydation durch Luftsauerstoff. In saurem Medium handelt es sich weitgehend um eine Schwermetallkatalyse, bei der vor allem Kupfer- und Eisenionen wirksam sind, während in alkalischer Lösung auch eine direkte Reaktion zwischen Sauerstoffmolekülen und Ascorbinsäure möglich ist (8, 9, 10).

Von organischen Stoffen, die oxydativ auf Ascorbinsäure einwirken können, sind vor allem die Chinone zu nennen. Ascorbinsäure und Chinone treffen unter den verschiedensten Bedingungen zusammen. Ob es zu einer merklichen Umsetzung kommt, wird weitgehend vom Redoxpotential des Chinons und von den Reaktionsbedingungen, wie pH-Wert, Temperatur und Reaktionszeit, abhängen. Eine schnelle Umsetzung ist immer dann zu erwarten, wenn es sich um Chinone mit starkem Oxydationsvermögen handelt. Hierzu gehören vor allem die einfachen Benzochinone. Naphthochinone und Anthrachinone oxydieren schwächer. Das Oxydationsvermögen der ortho-Chinone ist im allgemeinen größer als das der entsprechenden para-Chinone. Einen wesentlichen Einfluß auf das Redoxverhalten haben die Substitutionsgruppen der Chinonringe. Nach FIESER (11) wird das Redoxpotential von Naphthochinonen durch meta-dirigierende Gruppen, wie $-NO_2$, -CN, -COOH und $-SO_3H$, erhöht. Amino-, Hydroxyl-, Alkyl- und andere elektronenabstoßende Substituenten setzen das Potential herab.

Im lebenden Organismus wird man häufig mit einem Zusammentreffen von Ascorbinsäure und Chinon/Hydrochinon-Systemen rechnen müssen. Chinone wurden in den verschiedensten Lebewesen gefunden und erfüllen dort wichtige Aufgaben als Pigmente, Stoffwechselprodukte und Wirkstoffe. So gehören zum Beispiel die Vertreter der Vitamin-K-Gruppe zur Stoffklasse der Naphthochinone. Auch Benzochinone wurden gefunden. In den letzten Jahren gelang es CRANE, HATEFI und LESTER (12, 13) sowie MORTON und Mitarbeitern (14), aus vielen Mikroorganismen und aus fast allen untersuchten pflanzlichen, tierischen und menschlichen Geweben das sogenannte "Coenzym Q" zu isolieren. "Coenzym Q" ist ein Sammelbegriff für mehrere 2, 3-Dimethoxy-5-methyl-benzochinone, die in 6-Stellung verschiedene Polyisoprenketten besitzen.

Chinone sind ferner zu erwarten bei der Oxydation von Phenolkörpern, wie z. B. Adrenalin und Gerbstoffen. In der Therapie werden Chinone als Antibiotica und Krebsheilmittel verwendet. Ähnlich wie bei der Ascorbinsäure sind jedoch die Zellfunktionen der wenigsten natürlich

vorkommenden Chinone voll geklärt (15).

Auf Grund des verbreiteten Vorkommens von Ascorbinsäure und Chinonen erscheint es von großem Interesse, die Gesetzmäßigkeiten zu kennen, nach denen Ascorbinsäure mit Chinonen reagiert. Über die Umsetzungen selbst weiß man bisher wenig Grundsätzliches, obwohl in der Literatur der angewandten Chemie zahlreiche Beispiele für Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen zu finden sind.

KURSANOW (16) berichtet von einer Ascorbinsäureoxydation durch Chinone bei der Teefermentation. Bei diesem Vorgang entstehen durch enzymatische Oxydation von Gerbstoffen o-Chinone, die Ascorbinsäure oxydativ zerstören. Folgereaktionen der Chinone setzen erst ein, wenn alle Ascorbinsäure oxydiert ist.

Nach METZNER (2) ist die Zahl der Ascorbinsäure direkt oxydierenden Fermente kleiner als man bisher allgemein annahm. Zur direkten Oxydation ist nur die kupferhaltige Ascorbinsäure-Oxydase befähigt. Dagegen sind Polyphenoloxydasen und Peroxydasen nicht in der Lage, Ascorbinsäure zu dehydrieren. Sie bedürfen eines Überträgers. Dies sind phenolische Stoffe, die durch das Ferment zu Chinonen oxydiert werden, welche dann ihrerseits mit Ascorbinsäure dehydrierend reagieren. Für die weiteren Untersuchungen dieser Vorgänge dürften die Gesetzmäßigkeiten der Ascorbinsäure/Chinon-Umsetzungen von großem Interesse sein.

Während bei den eben geschilderten Beispielen die Oxydation der Ascorbinsäure durch Chinone im allgemeinen nicht gewünscht wird, da ihre physiologische Wirkung dabei meist verlorengeht, gibt es andere Fälle, bei denen man eine Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion ausdrücklich anstrebt.

So kann man zu präparativen Herstellung von Dehydroascorbinsäure Ascorbinsäure mit Chinonen dehydrieren (5). Hierzu läßt man Benzochinon auf eine wäßrige Ascorbinsäurelösung einwirken und entfernt das überschüssige Chinon sowie das entstehende Hydrochinon durch Ausschütteln mit Äther. Die gut wasserlösliche Dehydroascorbinsäure bleibt zurück.

Nutzt man die Reduktionskraft der Ascorbinsäure zum Schutz anderer Stoffe gegen Oxydationen aus, muß man natürlich die Dehydrierung der Ascorbinsäure in Kauf nehmen. So stabilisiert Ascorbinsäure alkalische Hydrochinonlösungen, die für photographische Entwicklungen Verwendung finden. Nach WEISSBERGER und Mitarbeitern (17) reduziert Ascorbinsäure die durch Autoxydation in geringen Mengen entstehenden Chinone, so daß diese ihre katalytisch beschleunigende Wirkung auf den Autoxydationsvorgang nicht mehr ausüben können.

Für die Stabilisierung von Lebensmitteln wird Ascorbinsäure gern verwendet, da sie als natürlicher Bestandteil der menschlichen Nahrung vom "Verbraucher" nicht als Fremdstoff angesehen wird. Nach MARKH (18) verzögert ein Ascorbinsäurezusatz die Dunkelfärbung von Lebensmittelkonserven, indem die Melanoidinbildung und Tanninoxydation gebremst wird. Da bei diesen Oxydationsvorgängen zuerst o-Chinone entstehen (16), wird auch hier die Chinonreduktion durch Ascorbin-

säure eine wichtige Rolle spielen.

Bei der Fettstabilisation durch ein Gemisch von Antioxydantien und Ascorbinsäure dürften Umsetzungen zwischen Ascorbinsäure und Chinonen ebenfalls von Wichtigkeit sein. Die Antioxydantien, die den Vorgang der Fettautoxydation aufhalten, fangen Radikale ab und gehen dabei als phenolische Körper zum Teil in Chinone über (19). Ascorbinsäure unterstützt diesen Prozeß synergistisch. Über den Mechanismus ihres Eingreifens gibt es verschiedene Theorien (20, 21, 22). Die Reduktion der entsprechenden Chinone durch Ascorbinsäure hat für diese Vorgänge sicher eine erhebliche Bedeutung.

Bei allen hier angeführten Beispielen reagieren Chinone mit Ascorbinsäure. Über die Gesetzmäßigkeiten dieser Umsetzungen weiß man wenig. Selbst über die Stöchiometrie sind in der Literatur keine genauen Angaben zu finden. Im Hinblick auf die Bedeutung dieser Vorgänge sollten im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen näher untersucht werden. Als erstes war die Stöchiometrie zu klären, und erst im Anschluß daran konnte nach den Reaktions-Zeit-Gesetzen gesucht werden.

Nach ERLBACH und OHLE (23) ragiert D-Ascorbinsäure in schwefelsaurer Lösung mit Benzochinon im stöchiometrischen Verhältnis 1:1. In neutralem Medium konnten sie jedoch eine quantitative Umsetzung nicht feststellen. Da nähere Angaben über ihre Versuchsbedingungen fehlen, ist nicht bekannt, ob sie die D-Ascorbinsäure durch Sauerstoffausschluß gegen Autoxydation geschützt haben und die Lichtempfindlichkeit der Chinone berücksichtigt wurde.

MOLL und WIETERS (5) erhielten bei der Oxydation von L-Ascorbinsäure mit einer ätherischen Benzochinonlösung in neutralem Medium ebenfalls keine quantitative Umsetzung. Da sie jedoch nur an einer präparativen Herstellung der Dehydroascorbinsäure interessiert waren, unternahmen sie keine besonderen Anstrengungen zur genaueren Untersuchung der Stöchiometrie. Die Möglichkeit einer Ascorbinsäureautoxydation schalteten sie durch Verwendung von sauerstoffreiem Wasser aus.

Bessere Versuchsbedingungen wählten FLORENCE und GACS (24) bei der spektralphotometrischen Untersuchung der Ascorbinsäureoxydation durch Benzochinon. Sie verhinderten durch Ausschluß von Licht eine photochemische Chinonzersetzung und schalteten durch die Wahl eines stark sauren Reaktionsmediums die Möglichkeit einer Ascorbinsäureautoxydation weitgehend aus. Auch sie fanden im sauren Bereich eine quantitative Umsetzung zwischen Ascorbinsäure und Benzochinon, beschränkten ihre Versuche aber auf pH-Werte um 2.

In stark saurem Medium war also eine genau äquimolare Reaktion zwischen Ascorbinsäure und Bezochinon zu erwarten. Der Literatur war jedoch nicht zu entnehmen, ob dies auch für schwach saure und neutrale Lösungen galt. Die Beobachtungen von ERLBACH und OHLE (23) sowie von MOLL und WIETERS (5), nach denen die Ascorbinsäure/Benzochinon-Reaktion in neutralem bzw. schwach saurem Medium vom stöchiometrischen Verhältnis 1:1 abweicht, bedurfte einer Nachprüfung, da beide Forschergruppen ein nur geringes Interesse an der Klärung der

Stöchiometrie hatten und deshalb wahrscheinlich zu einfache Versuchsbedingungen wählten.

Zahlreiche Umsetzungen zwischen Ascorbinsäure und anderen Oxydationsmitteln führten zur Vermutung, daß auch in schwach saurer und neutraler Lösung zwischen Ascorbinsäure und Chinonen eine quantitative Reaktion stattfindet.

Einige Ascorbinsäureoxydationen verlaufen so glatt, daß sie zu Gehaltsbestimmungen verwendet werden. ERDEY und Mitarbeiter (25) stabilisierten Ascorbinsäurelösungen mit Äthylendiamintetraessigsäure gegen Autoxydation sowie mit Ameisensäure gegen bakterielle Einflüsse und titrierten damit oxydierende Stoffe. Die Methode ging als "Ascorbinometrie" in die Literatur ein. Bromat-, Jodat-, Eisen(III)- und Cer(IV)-Ionen werden in stark saurer Lösung titriert. Hexacyanoferrat (III)-, Silber(I)- und Kupfer (II)-Ionen können sogar in schwach saurem bzw. neutralem Medium bestimmt werden (25, 26).

In alkalischen Lösungen verbraucht Ascorbinsäure bei Titrationen mit 2. 6-Dichlorphenolindophenol- bzw. Jodlösungen mehr als zwei Oxydationsäquivalente. Nach H. v. EULER und B. EISTERT (27) wird dieser Mehrverbrauch durch die bei der Dehydroascorbinsäure-Zersetzung entstehende stark reduzierende 2. 3-Diketogulonsäure hervorgerufen. Nach GSTIRNER (28) braucht in sauren Lösungen mit pH-Werten unter 4 mit dem Auftreten dieses reduzierenden Dehydroascorbinsäure-Zersetzungsproduktes nicht gerechnet zu werden.

Starke Oxydationsmittel, wie Salpetersäure, Chromsäure, unterchlorige Säure und Wasserstoffperoxyd, lassen sich mit Ascorbinsäure nicht bestimmen, da sie mit Ascorbinsäureoxydationsprodukten weiter reagieren (25).

Auch bei der Ascorbinsäureautoxydation gibt es Nebenreaktionen. Nur zu Beginn gilt das Reaktionsschema (8, 29):

$$AH_2 + O_2 \longrightarrow A + H_2O_2 \qquad (2)$$

AH_2 = Ascorbinsäure A = Dehydroascorbinsäure

Bereits während dieser Reaktion verschwindet ein Teil der Dehydroascorbinsäure und des Wasserstoffperoxyds, wofür nach eigenen Untersuchungen (30) kurzlebige Zwischenprodukte verantwortlich sind. Auch hier begünstigt ein alkalisches Medium Abweichungen von der Hauptreaktion.

Nach dem Verhalten der Ascorbinsäure gegenüber verschiedenen Oxydationsmitteln war es jedoch nicht ausgeschlossen, daß Chinone unter geeigneten Versuchsbedingungen, d. h. unter Licht- und Luftausschluß, Ascorbinsäure auch in schwach saurem und neutralem Medium in quantitativer Reaktion oxydieren. Die meisten der auf den Seiten 9 und 10 beschriebenen Ascorbinsäure/Chinon-Reaktioren der angewandten Chemie laufen gerade in diesem pH-Bereich ab. Es lag daher nahe, die geplanten Untersuchungen der Stöchiometrie und Kinetik von Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen vor allem in schwach sauren und neutralen Lösungen vorzunehmen.

Für die Konzentrationsbestimmungen der vorgesehenen Untersuchungen kamen vorwiegend physikalisch-chemische Methoden in Frage, da besonders sie für fortlaufende Messungen geeignet erschienen. Zunächst bot sich die Spektralphotometrie an, die bei den Stöchiometrieversuchen von FLORENCE und GACS (24) ausgezeichnete Ergebnisse geliefert hatte. Für die kinetischen Messungen ergaben sich jedoch apparative Schwierigkeiten, da schnelle Reaktionen bei konstanter Temperatur und unter Luftausschluß zu untersuchen waren. Außerdem stand kein selbstregistrierendes Spektralphotometer zur Verfügung.

Bessere Versuchsbedingungen versprach die Polarographie. Sie hatte sich bereits bei eigenen kinetischen Untersuchungen der Ascorbinsäureautoxydation gut bewährt (30).

Die Polarographie stellt eine besondere Form der Elektrolyse dar, bei der eine polarisierbare und eine unpolarisierbare Elektrode verwendet werden. Durch einen Zusatz von indifferentem Leitsalz schaltet man den Einfluß des elektrischen Feldes auf polare Stoffe aus, so daß auch bei angelegter Spannung die zur Redoxreaktion befähigten Moleküle nur durch Diffusion zur unpolarisierbaren Elektrode - meist einer Quecksilbertropfelektrode - gelangen können. Der Strom wird diffusionsabhängig und damit der Konzentration des an der Elektrode reagierenden Stoffes proportional. Mit wachsender Spannung steigt der Strom in einem substanzspezifischen Spannungsbereich an und erreicht dann den konzentrationsproportionalen Grenzwert. Es entsteht eine sogenannte polarographische Stufe. Chinone, Hydrochinone und Ascorbinsäure geben ausgezeichnete Stufen. Bei Anwendung von Eichwerten kann man während einer Reaktion durch ständige Strommessungen fortlaufend Konzentrationsermittlungen durchführen.

Schwierigkeiten treten bei der Polarographie immer dann auf, wenn in einer Lösung mehrere Stoffe enthalten sind, deren Oxydationspotentiale sich nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Dies galt auch für die anodisch zu bestimmenden Hydrochinone und Ascorbinsäure. Bei gleichzeitiger Anwesenheit derartiger Stoffe sind quantitative Bestimmungen im allgemeinen nicht möglich, da sich der Strom im betreffenden Spannungsbereich additiv aus den Diffusionsanteilen beider Komponenten zusammensetzt.

Die kathodische Chinonbestimmung konnte dagegen von keinem der bekannten Reaktionspartner gestört werden. Die bei den Reaktionen entstehende Dehydroascorbinsäure macht sich polarographisch kaum bemerkbar. Ihr Diffusionsstrom erreicht nach ONO, TAKAGI und WASA (31) nur 1/1000 des zu erwartenden Wertes und braucht deshalb nur in besonderen Fällen berücksichtigt zu werden.

Moderne Polarographen sind für kinetische Untersuchungen besonders geeignet, da sie mit ihrem automatischen Schreiber Diffusionsströme und damit Konzentrationen fortlaufend registrieren können.

Die in der Literatur beschriebenen Versuche zur Auffindung von Gesetzmäßigkeiten der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen wurden meist mit p-Benzochinon ausgeführt (5, 24). Für die geplanten kinetischen Messungen kam p-Benzochinon aber nicht in Frage, da es im wichtig-

sten pH-Bereich, in schwach sauren Lösungen, mit Ascorbinsäure zu schnell reagiert. Die von ZUMAN (32) beschriebene Reaktion zwischen Ascorbinsäure und Juglon, einem Oxyderivat des α-Naphthochinons, schien für die vorgesehenen Untersuchungen zu langsam.

Um unter möglichst übersichtlichen Versuchsbedingungen arbeiten zu können, sollten alle Untersuchungen in wäßrigen Lösungen vorgenommen werden. Da aber viele Chinone schlecht wasserlöslich sind, kamen leider nur wenige für die geplanten Modellversuche in Frage. Bei der Suche nach einem geeigneten Chinon fiel die Wahl schließlich auf das 2.3-Dimethylbenzochinon-(1.4), dem eine gewisse pharmazeutische Bedeutung zukommt. Es ist nach FIESER, ARDAO und ESTABLE (33,34) der Hauptbestandteil des Antibioticums Gonyleptidin, das aus dem Sekret einer südamerikanischen Spinne gewonnen wird. Die Reaktionen mit Ascorbinsäure verlaufen bei diesem Chinon in schwach saurem Medium sowohl im äquimolaren Verhältnis als auch bei großem Ascorbinsäureüberschuß mit gut meßbaren Geschwindigkeiten.

Eine Reihe weiterer Eigenschaften des meist als o-Xylochinon bezeichneten 2.3-Dimethylbenzochinons-(1.4) waren für die vorliegende Arbeit von großem Nutzen. Es ist im Gegensatz zu vielen anderen Chinonen ausreichend wasserlöslich, präparativ leicht zugänglich und läßt sich durch Vakuumsublimation gut reinigen. Ferner ist es im Dunkeln aufbewahrt monatelang ohne nachweisbaren Wirkungsverlust haltbar. Im Verlaufe dieser Arbeit sollten die mit diesem Chinon gewonnenen Erfahrungen auf andere Chinone übertragen werden.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war also die Auffindung von Reaktionsgesetzen, nach denen Ascorbinsäure und Chinone miteinander reagieren. Als erstes mußte eine geeignete Meßanordnung geschaffen werden. Dann war die Stöchiometrie zu klären, und schließlich galt es, die entsprechenden Reaktions-Zeitgesetze aufzuspüren.

B. Experimenteller Teil

I. Polarographische Versuchsanordnung

Für die polarographischen Messungen wurde ein vollautomatischer Polarograph der Firma RADIOMETER, Kopenhagen, vom Typ PO 4a verwendet. Das Gerät zeichnet sich durch einfache Bedienung, hohe Stromempfindlichkeit und einen schnellen Kompensationsschreiber mit 250 mm nutzbarer Schreibbreite aus.

In Anlehnung an normale polarographische Meßgefäße war eine Meßanordnung zu entwicklen, die allen Versuchsanforderungen genügte. Es mußte ein schneller Reaktionsstart unter völligem Ausschluß von Sauerstoff möglich sein. Das von der Elektrode abtropfende Quecksilber sollte aus der Lösung abgeführt werden, um eine eventuelle Beeinflussung der Reaktion von vornherein weitgehend auszuschalten. Eine Thermostateneinrichtung war der kinetischen Messungen wegen selbstverständlich.

In Abb. 1 ist die Meßanordnung zur polarographischen Untersuchung der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen im Schema dargestellt. Die aus Jenaer Geräteglas angefertigte eigentliche Meßzelle (MZ) bestand aus einem doppelwandigen zylindrischen Gefäß, das sich nach unten verjüngte und zur Quecksilberabführung in die Kapillare (K) überging. Diese stand mit dem Quecksilberniveaugefäß (NG) in Verbindung. Zwischen innerer und äußerer Gefäßwand der Meßzelle strömte Thermostatenflüssigkeit. Oben ließ sich das Meßgefäß mit einem aufgeschliffenen Deckel verschließen, in den fünf 14,5-Normalschliffe eingeschmolzen waren; (in Abb. 1 sind der Übersichtlichkeit wegen nur drei dargestellt). Sie dienten zur Einführung von Einsätzen, die für den Start und die polarographischen Messungen erforderlich waren.

Die 12 cm lange Zylinderkapillare (ZK) der Quecksilbertropfelektrode wurde durch eine passende Öffnung eines Schliffkerns gesteckt und mit Hilfe einer Gummidichtung gasdicht mit diesem verbunden. Die Quecksilbersäule über der Kapillarenoberkante hatte stets eine Höhe von 50 cm. Die Fließgeschwindigkeit des Quecksilbers betrug 3,023 Milligramm pro Sekunde.

Als Gegenelektrode (GE) kam eine mit gesättigter Kaliumsulfatlösung gefüllte Quecksilber(I)-sulfat-Elektrode zur Anwendung, die über einen Heber (He) mit der Meßzelle leitend in Verbindung stand. Um einen möglichst einfachen Übergang zur Gegenelektrode zu schaffen, war auch der Heber mit gesättigter Kaliumsulfatlösung gefüllt. Die Heberflüssigkeit war von der Gegenelektrode durch eine Glasfritte (GF) und von der Reaktionslösung durch ein Tondiaphragma (TD) getrennt. Auf die üblicherweise verwendete Kalomelelektrode mit Kaliumchloridheber wurde bei der in Abb. 1 gezeigten Meßanordnung verzichtet, weil bereits Spuren von Chloridionen anodische Bestimmungen stören können.

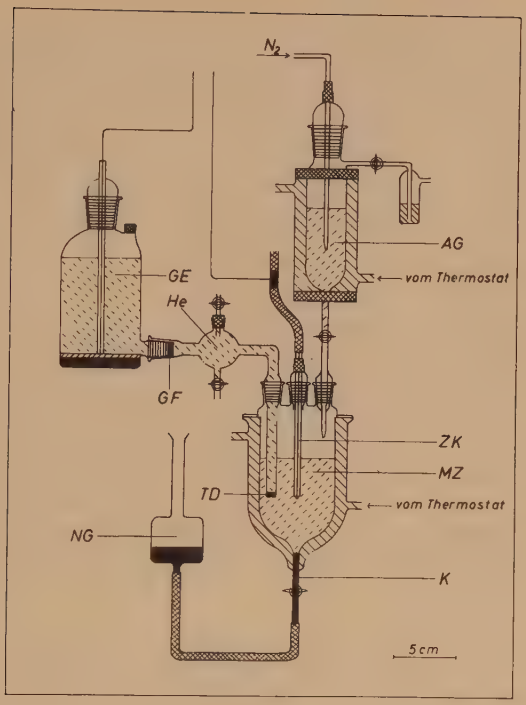


Abb. 1 Meßanordnung zur polarographischen Untersuchung der Ascorbinsäureoxydation durch Chinone. (Kontrollthermometer und Begasungseinrichtung sind der Übersichtlichkeit wegen nicht dargestellt.)

Die in dieser Arbeit angegebenen Spannungswerte entsprechen im allgemeinen der Spannungsangabe des Polarographen. Sie werden als Gerätespannung bezeichnet und sind auf die verwendete Gegenelektrode, auf die mit gesättigter Kaliumsulfatlösung gefüllte Quecksilber-(I)-sulfat-Elektrode, zu beziehen. Nur die Halbstufenpotentiale wurden zum besseren Vergleich mit Literaturwerten gegen eine Normal-Kalomelelektrode mit Kaliumchlorid-Heber gemessen. Sämtliche Potential- und Spannungsangaben dieser Arbeit sind mit einem Hinweis über die Art der Spannungsmessung versehen.

Bei Verwendung der Quecksilber(I)-sulfat-Elektrode ergab sich im Acetatpuffer mit pH 4,0 bei einer Gerätespannung von - 1,0 Volt, dem Potential für Chinonbestimmungen, eine Tropfzeit von 3,04 Sekunden pro Quecksilbertropfen. Bei - 0,15 Volt, dem Potential für

Ascorbinsäure- und o-Xylohydrochinonbestimmungen, wurden 2,82 Sekunden pro Tropfen gemessen.

Neben den Elektroden war eine Reihe von weiteren Schliffeinsätzen für die Versuchsdurchführung notwendig. Hierzu gehörte ein in Zehntelgrade eingeteiltes Thermometer zur Kontrolle der Temperatur. Sie betrug bei allen Versuchen 25,00 ± 0,05 °C. Zur Entfernung des in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoffs wurden die Reaktionslösungen mit Reinstickstoff der Firma OSRAM begast. Ein kombinierter Schliffeinsatz diente zur Gaszu- und -abführung. Das Einleitungsrohr ließ sich heben und senken. Auf diese Weise konnte während der Messungen zur Erneuerung der Schutzgasschicht ständig etwas Stickstoff über die Lösung geleitet werden. Das Thermometer und der Begasungseinsatz sind in Abb. 1 der Übersichtlichkeit wegen nicht dargestellt.

In einer der Schliffhülsen saß das Aufsatzgefäß (AG), das für den schnellen Zusatz der Ascorbinsäure beim Start der Reaktion erforderlich war. Während sich die Chinonlösung in der Meßzelle befand, wurde die unter Stickstoff hergestellte Ascorbinsäurelösung in das Aufsatzgefäß gegeben, wo sie unter weiterer Begasung durch den Thermostatenmantel die vorgeschriebene Temperatur annahm. Beim Start ließ sich diese Ascorbinsäurelösung in ca. 2 Sekunden mit Stickstoffüberdruck in die Chinonlösung drücken. Da ein intensives Vermischen der Flüssigkeiten unbedingt notwendig war, zur polarographischen Registrierung aber das gesamte System beruhigt sein mußte, konnte die erste reproduzierbare Messung erst etwa 10 Sekunden nach der Lösungsvereinigung vorgenommen werden.

Für die normalen Versuche wurden 120,0 ml einer Chinonlösung in die Meßzelle und 30,00 ml einer Ascorbinsäurelösung in das Aufsatzgefäß gegeben. Da ein Teil der Ascorbinsäurelösung an der Wand des Aufsatzgefäßes haften blieb, gelangten nur 29,6 ml in die Chinonlösung.

Um Flüssigkeitsverluste bei längerer Stickstoffbegasung zu vermeiden, wurde der Reinstickstoff vor dem Eintritt in die Meßzelle bei 25,0° C mit Wasserdampf gesättigt.

Wegen der allgemeinen Lichtempfindlichkeit von Chinonlösungen mußten die Versuche und zum Teil auch die Vorbereitungen unter Lichtausschluß ausgeführt werden.

Für polarographische Vorversuche stand eine vereinfachte Meßanordnung zu Verfügung. Als Meßzelle kam ein kurzes weites Reagenzglas zur Anwendung, das mit einem mehrfach durchbohrten Gummistopfen versehen war. Durch die Bohrungen führten die Quecksilbertropfkapillare, die Gaszu- und -abführung und der mit gesättigter Kaliumsulfatlösung gefüllte Heber, der ebenfalls mit einer kleinen Quecksilber(I)-sulfat-Elektrode in Verbindung stand.

Für die polarometrischen Titrationen wurde eine besondere Meßzelle verwendet. Sie ist zusammen mit der Bürettenfülleinrichtung auf Seite 29 abgebildet und beschrieben.

II. Die Reaktionskomponenten

1. Herstellung und Reinheit der verwendeten Chemikalien

Die wichtigsten in dieser Arbeit verwendeten Chinone sind in Abb. 2 zusammengestellt.

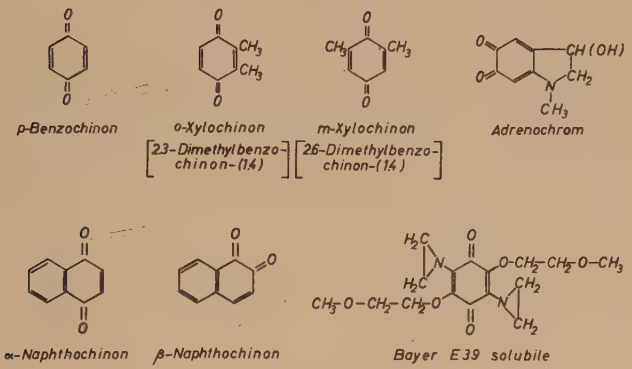


Abb. 2 Zusammenstellung der wichtigsten Chinone dieser Arbeit.

Das wichtigste Chinon dieser Arbeit, das o-Xylochinon, wurde nach TEUBER und RAU (35) durch Oxydation von 2.3-Dimethylphenol mit Kalium-nitrosodisulfonat hergestellt. Nach zweimaliger Vakuumsublimation war es völlig rein und hatte den in der Literatur angegebenen Schmelzpunkt von 55° C. Auch das m-Xylochinon ließ sich auf diesem Wege leicht darstellen.

Das "BAYER E 39 solubile" stellte die Firma BAYER, Leverkusen, freundlicherweise zur Verfügung. Adrenochrom wurde nach einem Vorschlag von K. WIESNER (36) durch fermentative Oxydation mit Polyphenoloxydase dargestellt. Die enzymatische Oxydation hat den Vorteil, daß sie schonend abläuft und praktisch keine Nebenprodukte entstehen läßt, die die polarographischen Bestimmungen stören können. Die Fermentpräparation wurde aus Kartoffeln nach KUBOWITZ (37) hergestellt. Die Anreicherung erfolgte bis zur zweiten Fraktionierung mit Ammoniumsulfat. 1 Milliliter dieser Präparation hatte eine Aktivität von 45 Cresolase-Einheiten (38).

Die übrigen Chinone wurden aus dem Handel bezogen und durch mehrmaliges Umkristallisieren gereinigt. Das p-Benzochinon ließ sich in den meisten Fällen durch das haltbarere und in analysenreiner Form käuflich zu erwerbende Chinhydron ersetzen.

Das o-Xylohydrochinon konnte nach NIETZKI (39) aus o-Xylochinon durch Reduktion mit Schwefeldioxyd und Umkristallisation aus Benzol leicht dargestellt werden.

Die für die Dämpfung der Strommaxima benötigte Stearonaphthalinsulfonsäure wurde nach SCHLUTIUS (40) durch Anlagerung von Naphthalin an Ölsäure und anschließende Sulfurierung hergestellt.

Die von der Firma E. MERCK bezogenen Puffersubstanzen waren entweder analysenrein oder entsprachen den Forderungen von SÖRENSEN. Auch die Ascorbinsäure entsprach dem Reinheitsgrad "zur Analyse". Die übrigen Chemikalien, wie Titriplex III und Adrenalin, konnten ebenfalls in weitgehend reiner Form aus dem Handel bezogen werden.

Das verwendete Wasser wurde mit einer Permutitsäule vorgereinigt und zweimal in einer Quarzapparatur destilliert.

2. Gehaltsbestimmungen

Für die Aufstellung von polarographischen Eichkurven mußte der Reinheitsgrad der verwendeten Substanzen bekannt sein. Es waren Gehaltsbestimmungen von Ascorbinsäure, Chinonen und Hydrohinonen durchzuführen.

Der von der Firma E. MERCK für Ascorbinsäure garantierte Gehalt von über 99,7 % konnte durch jodometrische Titration nach der Vorschrift des Amerikanischen Arzneibuches, Ausgabe 1960 (41), bestätigt werden.

Die Methode der jodometrischen Chinonbestimmung entsprach im wesentlichen der Arbeitsvorschrift von VALEUR (42). Als Lösungsmittel diente ein Alkohol/Wasser-Gemisch. Das von den Chinonen in stark saurem Medium aus Jodidionen in Freiheit gesetzte Jod wurde ohne Stärke mit Natriumthiosulfatlösung titriert. In Ergänzung zur Originalvorschrift erfolgte die Bestimmung unter Kohlendioxyd. Das ß-naphthochinon-4-sulfonsaure Natrium konnte ohne Alkoholzusatz gelöst werden und wurde mit Stärke titriert. In Tab. 1 sind die wichtigsten Chinone der vorliegenden Arbeit mit ihrem Gehalt aufgeführt. Die Prozentangaben sind Mittelwerte aus mindestens drei Bestimmungen.

Tab. 1 Ergebnisse jodometrischer Gehaltsbestimmungen von Chinonen.

Chinone	Gehalt
Benzochinon	99,8 %
Chinhydron	100,1 %
o-Xylochinon	99,7 %
α-Naphthochinon	99,0 %
ß-Naphthochinon	93,7 %
ß-naphthochinon-4-sulfonsaures Natrium	99,5 %

Beim ß-Naphthochinon wurde auf eine weitere Gehaltssteigerung durch erneutes Umkristallisieren verzichtet, da es auch in dieser Form für die vorgesehenen Versuche geeignet war.

Die Gehaltsbestimmung der Hydrochinone erfolgte jodometrisch nach PREISS (43), da die cerimetrische Methode von FURMANN und WALLACE (44) keine besseren Ergebnisse lieferte. In Abweichung von der Originalvorschrift wurden die Titrationen zur Vermeidung von Autoxydationen unter Stickstoff ausgeführt. Die untersuchten Hydrochinone hatten alle einen Gehalt von über 99,0 %. Es gehörten hierzu: o-Xylohydrochinon, α-Naphthohydrochinon und der Hydrochinonanteil des Chinhydrons.

3. Die Reaktionslösungen

Die erhebliche pH-Abhängigkeit der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen erforderte eine Pufferung der Reaktionslösungen. Die Salzkomponente des Puffers diente gleichzeitig als indifferentes Leitsalz für die polarographischen Messungen.

Nach dem Programm der vorliegenden Arbeit waren vor allem Untersuchungen in schwach saurem und neutralem Medium durchzuführen. Da besonders bei höheren pH-Werten mit Nebenreaktionen zu rechnen ist, wurden die wichtigsten Versuche bei pH 4 ausgeführt. Nach GSTIRNER (28) spielt bei diesem pH-Wert die Umwandlung der Dehydroascorbinsäure in die reduzierende 2.3-Diketogulonsäure noch keine wesentliche Rolle.

Die Reaktionslösungen im pH-Bereich von 4 bis 5 enthielten 0,05 Mol Natriumacetat pro Liter und je nach pH-Wert wechselnde Mengen an Essigsäure. Nach einem Vorschlag von SKRABAL (45) erhält man auf diese Weise Puffer mit einheitlicher Ionenkonzentration. Für andere pH-Bereiche wurden normale Citrat-, Phthalat-, Phosphat- und Veronalpuffergemische verwendet. Während bei den Phosphaten der pH-Wert vom Mischungsverhältnis 0,1-molarer Kaliumdihydrogenphosphat- und Dinatriumhydrogenphosphatlösungen abhing, wurden für die anderen Puffer 0,1-molare Lösungen von Trinatriumcitrat, Kaliumbiphthalat

bzw. Veronal-Natrium mit der notwendigen Menge 0,1-normaler Schwefelsäure versetzt. pH-Verschiebungen, die bei Belastungen der Puffer durch größere Ascorbinsäurezusätze auftraten, wurden durch geringe Abwandlungen der Puffergemische ausgeglichen.

Für die pH-Messungen mit einer hochohmigen Glaselektrode stand ein Präzisions-pH-Meter Typ 42 B der Firma POLYMETRON, Zürich, zur Verfügung. Die Reaktionslösungen wurden nach Möglichkeit auf die ganzzahligen pH-Werte der von der Firma RIEDEL-DE HAËN bezogenen Eichpuffer eingestellt. Die Ungenauigkeit der pH-Angaben liegt bei ± 1/100 einer pH-Einheit.

In einigen Fällen mußte den Reaktionslösungen ein oberflächenaktiver Stoff zugesetzt werden, um störende Strommaxima zu entfernen. Diese Strommaxima entstehen nach M. v. STACKELBERG(46) durch Potentialunterschiede an der Tropfenoberfläche, die Wirbel und Strömungen hervorrufen und dadurch zusätzlich Moleküle, die mit der Elektrode reagieren, heranführen. Der registrierte Strom ist in dem betreffenden Spannungsbereich in bezug auf die normalen Diffusionsvorgänge zu groß.

Während die Chinone nur bei hohen Konzentrationen Maxima aufwiesen, konnten die Ascorbinsäure- und Hydrochinonstufen nur nach Entfernung ihrer Strommaxima quantitativ ausgewertet werden. Eine Reihe von grenzflächenaktiven Stoffen ist in der Lage, diese Unregelmäßigkeiten zu dämpfen. Die von CAPITANIO und PITTONI (47) als besonders wirksam erkannte Stearonaphthalinsulfonsäure bewährte sich für diese Untersuchungen am besten. In normalen Fällen reichte ein Zusatz von 0,005 % aus. Entsprechend den Versuchen auf Seite 49 hatte die Stearonaphthalinsulfonsäure keinen Einfluß auf die Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen.

4. Polarographisches Verhalten der Reaktionskomponenten

Als Voraussetzung für die geplanten Versuche war von den Reaktionskomponenten die einwandfreie Ausbildung einer polarographischen Stufe zu fordern. Eine polarographische Stufe läßt sich quantitativ immer dann gut auswerten, wenn im Stromspannungsdiagramm der Strom nach dem Anstieg in einen möglichst lange konstant bleibenden Grenzwert übergeht.

Während die Stufenhöhe quantitative Aussagen erlaubt, ist die Lage des Stufenanstiegs vom Redoxverhalten des Stoffes abhängig und damit stoffspezifisch. Das zum Halbstufenwert gehörige Potential, das sogenannte Halbstufenpotential, kann zu Identitätsnachweisen herangezogen werden. Ist die Elektrodenreaktion reversibel, findet man für das Halbstufenpotential und das Redoxpotential den gleichen Wert.

Mehrere Verbindungen können polarographisch nur dann nebeneinander bestimmt werden, wenn ihre Stufen nacheinander ansteigen. 100 bis 200 mV müssen die Halbstufenpotentiale im allgemeinen auseinanderliegen, damit sich die Stufen getrennt vermessen lassen. Da Sauerstoff zur Autoxydation von Ascorbinsäure und Hydrochinonen befähigt ist und außerdem die polarographischen Chinonbestimmungen stört, wurden alle Reaktionslösungen zur Entfernung des Luftsauer-

stoffs mit Rein-Stickstoff begast.

Die irreversible polarographische Oxydationsstufe der Ascorbinsäure wurde im Jahre 1938 durch KODIČEK und WENIG (48) zum ersten Mal in der Literatur erwähnt. Nach WIESNER (49) und KERN (50) ist die eigentliche Elektrodenreaktion reversibel. Es bildet sich jedoch ein nur sehr kurzlebiges Oxydationsprodukt, das sofort durch Umwandlung irreversibel in die sogenannte Dehydroascorbinsäure übergeht. Diese Dehydroascorbinsäure gibt keine normale Reduktionsstufe. Der registrierte Strom erreicht nur 1/1000 der zu erwartenden Größe und tritt deshalb in den meisten Fällen nicht in Erscheinung. ONO, TAKAGI und WASA (31) nehmen an, daß das elektrodenaktive Oxydationsprodukt sehr rasch durch Hydratisierung in die inaktive Form übergeht.

Das nach KERN (50) besonders in etwas alkalischen Puffern auftretende Ascorbinsäuremaximum ließ sich in fast allen Fällen durch einen Zusatz von 0,005 % Stearonaphthalinsulfonsäure entfernen. Bei pH 4,00 hatte Ascorbinsäure im Acetatpuffer unter Berücksichtigung des Spannungsabfalls in der Meßlösung gegen eine mit 1-normaler Kaliumchloridlösung gefüllte Kalomelelektrode ein Halbstufenpotential von + 0,05 Volt.

Das Fehlen einer polarographischen Dehydroascorbinsäurestufe war für die vorliegende Arbeit von ausschlaggebender Bedeutung. Eine normale kathodische Stufe würde die quantitativen Chinonbestimmungen während einer Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion wahrscheinlich stören bzw. sogar verhindern.

Chinone verhalten sich polarographisch normal und fallen durch besonders gut ausgebildete Reduktionsstufen auf. In Verbindung mit ihren Hydrochinonen gelten sie als klassisches Beispiel für reversible organische Redoxsysteme. Teil B der Abb. 3 zeigt die Reduktionsstufe des o-Xylochinons. Unter Berücksichtigung des Potentialabfalls in der Meßzelle ergab sich für pH 4,00 ein Halbstufenpotential von +0,08 Volt. Im Teil A der Abb. 3, in dem das Polarogramm eines Gemisches aus o-Xylochinon und o-Xylohydrochinon dargestellt ist, geht die anodische Hydrochinonstufe in die kathodische Chinonstufe über. Das korrigierte Halbstufenpotential der gesamten Stufe liegt auch hier wieder bei + 0,08 Volt, wodurch die Reversibilität des Systems bestätigt wird.

Das Strommaximum des o-Xylohydrochinons ließ sich ebenfalls mit 0,005 % Stearonaphthalinsulfonsäure entfernen. Das o-Xylochinon zeigte erst bei höheren Konzentrationen ein Maximum.

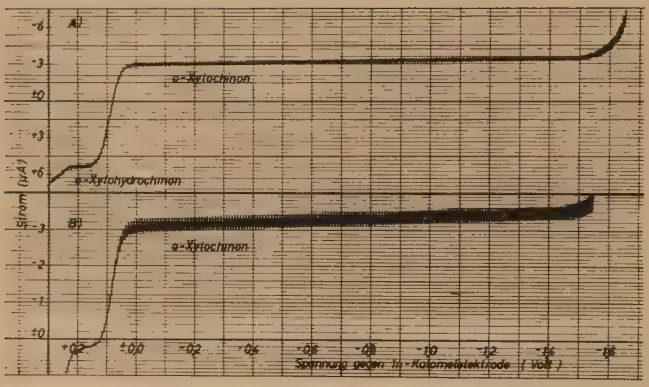


Abb. 3 Polarogramme von o-Xylochinon und o-Xylohydrochinon im Acetatpuffer bei pH 4,00 mit einem Zusatz von 0,005 % Stearonaphthalinsulfonsäure.

A) 0,325 mMol o-Xylochinon und
0,582 mMol o-Xylohydrochinon pro Liter

B) 0,325 mMol o-Xylochinon pro Liter.

Auch die übrigen verwendeten Chinone zeichneten sich durch gut ausgebildete Reduktionsstufen aus. In Tab. 2 sind ihre bei pH 4,00 gegen die Normal-Kalomelelektrode gemessenen Halbstufenpotentiale zusammengestellt. Als Heberflüssigkeit wurde 1-normale Kaliumchloridlösung verwendet.

Bei dem durch fermentative Oxydation hergestellten Adrenalin-Oxydationsprodukt (siehe Seite 45) soll es sich nach WIESNER (36) um Adrenochrom handeln.

In Vorversuchen wurde gefunden, daß sich die Reaktionskomponenten bei ihren polarographischen Bestimmungen mit Ausnahme von Ascorbinsäure und Hydrochinonen gegenseitig nicht beeinflussen. Da die Halbstufenpotentiale der verwendeten Hydrochinone und Ascorbinsäure zu dicht beieinanderliegen, waren ihre Einzelbestimmungen, sofern sie in gemeinsamer Lösung vorlagen, in llgemeinen nicht möglich. Die während der Reaktion entstehende Dehydroascorbinsäure erhöhte den Reststrom im Chinonmeßbereich so wenig, daß diese Veränderung nicht berücksichtigt zu werden brauchte.

Tab. 2 Halbstufenpotentiale der in dieser Arbeit verwendeten Chinone im Acetatpuffer mit einem Zusatz von 0,005 % Stearonaphthalinsulfonsäure; pH 4,00; Messungen gegen eine Normal-Kalomelelektrode.

Chinone	$E_{1/2}$ (Volt)
p-Benzochinon	+ 0,19
(Chinhydron)	(+ 0,19)
o-Xylochinon	+ 0,08
m-Xylochinon	+ 0,07
α-Naphthochinon	− 0,05
ß-Naphthochinon	+ 0,05
ß-naphthochinon-4-sulfonsaures Natrium	+ 0,11
Adrenochrom	− 0,08

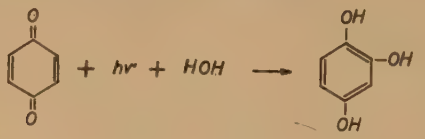
5. Beständigkeit der Reaktionskomponenten

Von den Reaktionskomponenten war eine möglichst große Beständigkeit zu fordern. Dies galt sowohl für die kristallinen Ausgangssubstanzen als auch für alle an den Umsetzungen beteiligten gelösten Stoffe. Die Lagerfähigkeit der Ausgangssubstanzen wurde durch wiederholte jodometrische Titrationen überprüft. Die Beständigkeit der Reaktionskomponenten in Lösung konnte in den meisten Fällen auf polarographischem Wege geklärt werden. Blieben die polarographische Stufenhöhe, die Lage des Halbstufenpotentials sowie die gesamte Form der Stufe für längere Zeit konstant, konnten wesentliche Veränderungen der betreffenden Stoffe ausgeschlossen werden.

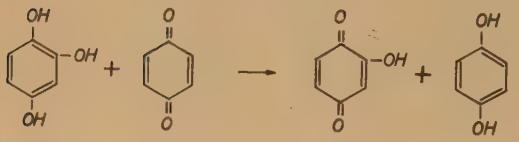
Da Sauerstoff die Chinonstufe beeinflußt, durfte keine Luft in das Meßgefäß gelangen. Durch einen bei allen Versuchen ständig über die Flüssigkeit geleiteten schwachen Stickstoffstrom wurden die in das Meßgefäß diffundierenden Sauerstoffspuren sofort herausgespült. Bei Kontrollversuchen konnten im Laufe von mehreren Stunden unter diesen Bedingungen keine Veränderungen des Reststroms einer leeren Grundlösung im Sauerstoffmeßbereich beobachtet werden.

Kristalline Ascorbinsäure ist monatelang haltbar, wenn sie im Dunkeln aufbewahrt wird. In Lösung läßt sie sich durch Stickstoffbegasung zur Ausschaltung der Autoxydation leicht stabilisieren. Anders verhält sich ihr erstes Oxydationsprodukt, die Dehydroascorbinsäure. Sie unterliegt einer langsamen Zersetzung. Nach WURMSER (51) und SIEFFERT (6) sowie BORSOOK und Mitarbeitern (7) zerfallen bei pH 4 etwa 1 - 2 % und bei pH 6 ungefähr 15 - 20 % pro Stunde. Wie aus den Versuchen auf Seite 47 und 48 hervorgeht, hatten diese Reaktionsprodukte im allgemeinen keinen Einfluß auf die Untersuchungen der Stöchiometrie und Kinetik von Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen.

Auch Chinone bedurften besonderer Schutzmaßnahmen. Die polarographischen Reduktionsstufen verschiedener Chinone fallen durch die Einwirkung von Licht bei gleichzeitiger Ausbildung neuer anodischer Stufen langsam ab. POUPÉ (52) klärte den Mechanismus dieser photochemischen Reaktionen auf. Als Beispiel ist im Folgenden das Umsetzungsschema für p-Benzochinon angeführt.



(3)



(4)

Zur Ausschaltung dieser Nebenreaktionen mußten die Chinonversuche daher unter völligem Lichtausschluß oder bei Rotlichtbeleuchtung ausgeführt werden. Im Dunkeln waren o-Xylochinonlösungen bei pH 4 für mehrere Stunden völlig stabil. Im neutralen Bereich um pH 7 konnte eine langsame Veränderung der Chinonstufe beobachtet werden, die jedoch im Bezug auf die Reaktionszeiten zu vernachlässigen war. Die anderen Chinone verhielten sich entsprechend. Nur beim Adrenalin-Oxydationsprodukt fand im Zeitraum der Umsetzung mit Ascorbinsäure eine nachweisbare Zersetzung statt (siehe Seite 54).

o-Xylochinon ist sogar in fester Form nicht lichtbeständig. Bei Sonnenbestrahlung wandelt es sich in ein weißes Produkt um, das nach FIESER und ARDAO (33) eine Polymerverbindung darstellt. Im Dunkeln aufbewahrt, war kristallines o-Xylochinon stabil. Die Gehaltsabnahme während einer einjährigen Lagerung lag unter 1 %. Wesentlich beständiger waren die reduzierten Formen der einfachen Benzo- und Naphthochinone. Wurden ihre Lösungen unter Stickstoff aufbewahrt, konnten bei ihnen im Verlaufe normaler Versuchszeiten sogar bei Tageslichtbeleuchtung keine Veränderungen beobachtet werden.

Der hohe Dampfdruck einiger Derivate des p-Benzochinons führte zu Chinonverlusten bei der Stickstoffbegasung der betreffenden Chinonlösungen. Die Chinonkonzentrationen nahmen während der Begasung um einige Prozente ab, da ein Teil der Chinone durch den Stickstoff ausgetrieben wurde. Aus diesem Grunde durfte während der meisten Versuche nur ganz wenig Stickstoff über die Reaktionslösungen geleitet werden.

6. Eichkurven

Der für die polarographische Stufenbildung verantwortliche Diffusionsstrom läßt sich nach ILKOVIC durch folgende Beziehung beschreiben:

$$i_D = c \cdot 60{,}7 \cdot n \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot \vartheta^{1/6} \qquad (5)$$

Bleiben die Tropfzeit ϑ, die Quecksilberfließgeschwindigkeit m, die Diffusionskonstante D und die pro Teilchen ausgetauschte Elektronenzahl n konstant, hängt der Diffusionsstrom i_D nur von der Konzentration c des an der Elektrode reagierenden Stoffes ab und kann somit zur Konzentrationsermittlung herangezogen werden.

Die für die einzelnen Konzentrationsbestimmungen benötigten Diffusionsströme wurden im allgemeinen nicht vollständigen Polarogrammen entnommen, sondern polarometrisch ermittelt. Bei der Polarometrie wird der Strom bei konstanter im Diffusionsstrombereich liegender Spannung registriert. Nach Abzug des Reststroms erhält man den Diffusionsstrom. Als Reststrom wird der bei leerer Grundlösung registrierte Strom bezeichnet, der durch Aufladungen der Quecksilbertropfen und durch geringe Verunreinigungen der Grundlösungen zustandekommt.

Läßt man bei polarometrischen Bestimmungen während einer Reaktion das Schreibpapier mit konstanter Geschwindigkeit laufen, erhält man Strom/Zeit-Diagramme, die leicht in Konzentrations/Zeit-Diagramme umzudeuten sind. Selbstverständlich wurde bei fallenden Konzentrationen die Registrierempfindlichkeit des Polarographen erhöht, um mit möglichst großem Schreiberausschlag arbeiten zu können.

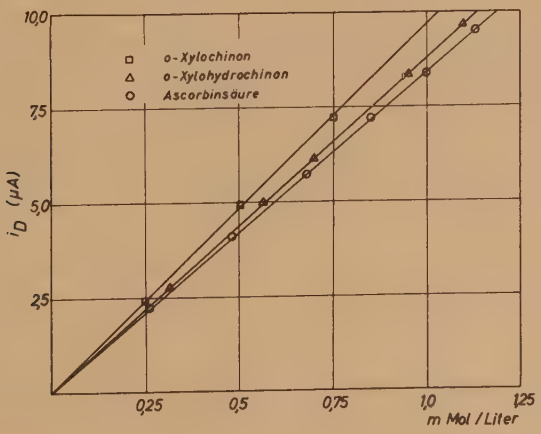


Abb. 4 Polarographische Eichkurven.

In Abb. 4 sind die Eichgeraden von Ascorbinsäure, o-Xylochinon und o-Xylohydrochinon dargestellt. Als Grundlösung wurde der auf Seite 19 beschriebene Acetatpuffer mit einem Zusatz von 0,005 % Stearonaphthalinsulfonsäure verwendet. Der pH-Wert der Lösung war 4,00.

Bei der Aufstellung der Eichkurven mußten sämtliche verwendeten Ascorbinsäurelösungen zur Vermeidung von Autoxydationsverlusten ständig mit Stickstoff begast werden. Auf eine Stabilisierung mit Äthylendiamintetraessigsäure wurde bei anodischen Bestimmungen verzichtet, da dieser Komplexbildner selbst eine anodische Stufe gibt. Bei Ascorbinsäurebestimmungen in Lösungen mit einem pH-Wert von 4,0 stand die Spannungsanzeige des Polarographen auf - 0,15 Volt. Dies entsprach einem Potential von + 0,21 Volt gegen die Normal-Kalomelelektrode. Eine Verlegung der Gerätespannung auf – 0,20 Volt hatte keinen Einfluß auf den ermittelten Diffusionsstrom. Strommaxima traten unter diesen Bedingungen nicht auf.

Bei der Aufstellung der o-Xylochinon-Eichkurven waren die Chinonverluste während der Stickstoffbegasung zu berücksichtigen. Außerdem mußten alle Arbeiten unter Lichtausschluß ausgeführt werden. Nach sorgfältigem Lösen einer bestimmten Chinonmenge wurde die Lösung im Meßgefäß in einem bestimmten Rhythmus mit Stickstoff begast. Auf je drei Minuten Begasung mit einem konstanten Stickstoffstrom von 1,3 Liter/Minute folgte eine Pause von zwei Minuten zur Registrierung des Diffusionsstroms. Die Chinonbestimmungen wurden bei einer Gerätespannung von – 1,00 Volt vorgenommen. In Abb. 5 erkennt man, daß der Stromabfall bereits nach einigen Minuten linear wird. Der Schnittpunkt der verlängerten Geraden mit der Ordinatenachse zur Zeit 0 ergibt den für die Einwaage geltenden o-Xylochinon-Diffusionsstrom. Zur Aufstellung einer Eichkurve mußten mehrere dieser Versuche mit verschiedenen Anfangskonzentrationen durchgeführt werden.

Auch die o-Xylohydrochinonlösungen bedurften eines Oxydationsschutzes durch Stickstoffbegasung. Auf völligen Lichtausschluß konnte verzichtet werden. Die Stufenhöhe wurde wie bei der Ascorbinsäure mit einer Gerätespannung von – 0,15 Volt ermittelt.

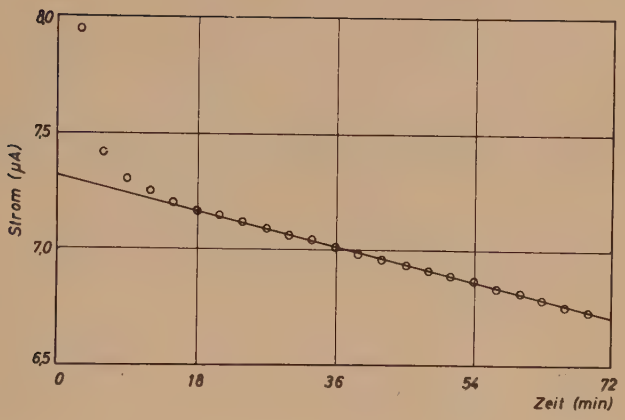


Abb. 5 Diffusionsstromabfall durch die Abnahme der Chinonkonzentration während der Stickstoffbegasung von 150 ml einer sauerstoffhaltigen o-Xylochinonlösung mit 1,3 Liter N_2 /Minute; Acetatpuffer mit pH 4,00; $c_{o\ \text{Chinon}}$: 0,753 mMol/Liter. Reststrom bereits abgezogen.

Die Proportionalität zwischen Diffusionsstrom und Konzentration nach der Gleichung von ILKOVIČ kommt durch die Eichkurven in Abb. 4 deutlich zum Ausdruck. Unter Verwendung dieser Eichwerte und der auf den Seiten 14 und 15 angeführten Daten ergeben sich für die Acetatgrundlösung mit pH 4,00 bei 25° C nach der Gleichung (5) Seite 25) für Ascorbinsäure (AS), o-Xylochinon (o-XCh) und o-Xylohydrochinon (o-XHCh) folgende Diffusionskonstanten:

D_{AS} : $0,77 \cdot 10^{-5}$ cm^2/s

$D_{o\text{-XCh}}$: $0,99 \cdot 10^{-5}$ cm^2/s

$D_{o\text{-XHCh}}$: $0,84 \cdot 10^{-5}$ cm^2/s.

III. Untersuchungen der Stöchiometrie

Sowohl FLORENCE und GACS (24) als auch ERLBACH und OHLE (23) hatten in stark saurem Medium eine quantitative Umsetzung zwischen Ascorbinsäure und p-Benzochinon unter Austausch von zwei Oxydationsäquivalenten festgestellt. Es war jedoch nicht geklärt, ob dies auch für schwach saure und neutrale Lösungen galt. In alkalischem Medium mußte mit Nebenreaktionen gerechnet werden, da sich in diesem pH-Bereich das erste Ascorbinsäureoxydationsprodukt, die Dehydroascorbinsäure, unter Bildung stark reduzierender Stoffe zersetzt.

Im ersten Abschnitt der vorliegenden Arbeit war daher die Stöchiometrie der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen bevorzugt in schwach saurem Medium zu untersuchen. Da die kinetischen Versuche mit Hilfe der Polarographie ausgeführt werden sollten, lag es nahe, diese Methode auch für die Untersuchung der Stöchiometrie einzusetzen. Bei schnell ablaufenden Umsetzungen war eine Überprüfung der Stöchiometrie mit polarometrischen Titrationen möglich. In allen anderen Fällen wurden bekannte Ascorbinsäure- und Chinonmengen zusammengegeben und nach vollendeter Reaktion die Restkonzentrationen polarographisch ermittelt.

1. Polarometrische Titrationen

Titrationen gehören zu den elegantesten chemischen Bestimmungsmethoden. Ist eine gute Endpunktserkennung möglich, führen sie mit geringem apparativen Aufwand zu recht genauen Ergebnissen. Mit einer Titration läßt sich natürlich auch klären, ob zwei Stoffe quantitativ miteinander reagieren.

Die Äquivalenzpunkte vieler Redoxtitrationen lassen sich am besten mit Hilfe elektrochemischer Methoden auffinden. Für die Ascorbinsäure/Chinon-Titration bot sich die Polarometrie an. Bei polarometrischen Titrationen dient die Quecksilbertropfelektrode nur zur Endpunktserkennung. Die Auswertung der Titration beruht auf dem Verbrauch einer geeigneten Maßlösung, die die polarographische Stufe des zu bestimmenden Stoffes durch Redoxreaktion, Ausfällung oder Komplexbildung gerade eben zum Verschwinden bringt. Bilden sich im Verlauf der Titration neue Stufen im Diffusionsstrommeßbereich, sind sie natürlich zu berücksichtigen.

Bei einer Ascorbinsäure/Chinon-Titration verschwindet im Verlauf der Bestimmung die Chinonstufe, und der registrierte Strom erreicht, da die Dehydroascorbinsäure unter diesen Bedingungen praktisch keine polarographische Stufe gibt, annähernd den Reststrom einer leeren Grundlösung. Die Titration ist beendet, wenn Chinon nicht mehr nachweisbar ist.

Die Meßanordnung für diese Bestimmungen entsprach im Prinzip dem Titrationsgefäß von KOLTHOFF (53). Da sowohl Ascorbinsäure als auch einige Chinone in sauerstoffreiem Wasser zu lösen waren, mußte eine veränderte Bürettenfülleinrichtung verwendet werden. Bei der Ascorbinsäure galt es, eine Autoxydation zu vermeiden, und bei den betreffenden Chinonen hätte eine längere Stickstoffbegasung infolge ihres hohen Dampfdrucks zu Verlusten geführt.

In Abb. 6 ist die Versuchsanordnung für die polarometrischen Titrationen dargestellt. Der Kolben E diente zur Herstellung der "Bürettenlösung". Nach gründlicher Begasung einer bestimmten Flüssigkeitsmenge mit wasserdampfgesättigtem Stickstoff wurde eine der Reaktionskomponenten durch Einwerfen in E gelöst. Nach Senken von R_1 und Heben von R_2 ließ sich die Lösung in die Bürette drücken. Um ein Nachlaufen zu verhindern, mußte sodann Hahn H_1 geschlossen werden.

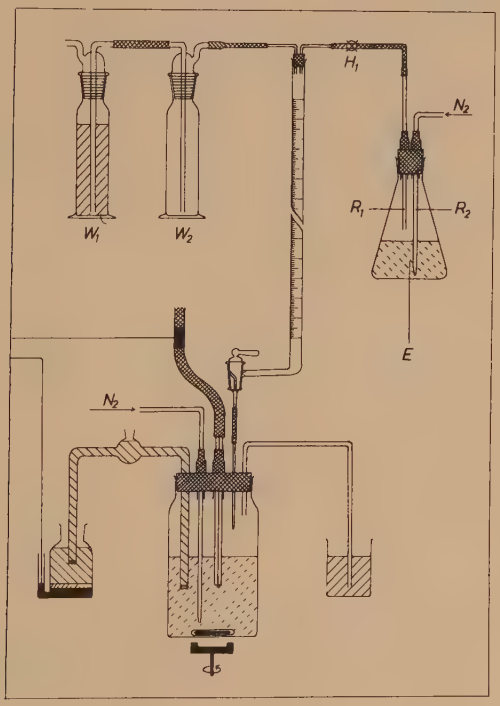


Abb. 6 Versuchsanordnung für die polarometrischen Chinontitrationen mit Ascorbinsäurelösungen.

Das Meßgefäß war mit dem notwendigen Zubehör, wie Quecksilbertropfelektrode, Heberverbindung zur Gegenelektrode, Büretteneinlauf und Gaszu- und -ableitungsrohr, ausgerüstet. Um auch hier ein unnötiges Begasen zu vermeiden, wurde die Reaktionslösung in Abweichung von der KOLTHOFF-Meßanordnung nicht durch Gaseinleitung, sondern durch Magnetrührung durchmischt. Die Waschflaschen W_1 und W_2 dienten als Gasabschluß. Bei der Bürettenbegasung strömte Abschlußflüssigkeit von W_2 nach W_1 und kehrte während der Titration infolge des in der Bürette entstandenen Unterdrucks wieder nach W_2 zurück. Auch diese Versuche wurden weitgehend unter Lichtausschluß durchgeführt.

Für die ascorbinometrischen Titrationen kamen natürlich nur Chinone in Frage, die mit Ascorbinsäure rasch reagieren. Hierzu gehören zum Beispiel p-Benzochinon und o-Naphthochinone.

Sowohl die Ascorbinsäure als auch die Chinone wurden erst kurz vor den Titrationen gelöst, die "Bürettenkomponente" meist in Wasser, die vorgelegte Substanz in verdünnter Leitsalz- oder Pufferlösung. Da ß-Naphthochinon schlecht wasserlöslich ist, enthielt die Leitsalzlösung bei vorgelegtem Chinon einen Alkoholzusatz. Mit Substanzverlusten durch Autoxydation oder Stickstoffbegasung brauchte nicht gerechnet zu werden, da sowohl Ascorbinsäure als auch die Chinone erst nach längerer Stickstoffbegasung des Lösungsmittels in die Flüssigkeit gegeben wurden und diese Lösungen dann einer nur geringen Begasung bedurften. Solange kein Ascorbinsäureüberschuß vorhanden war, lag der pH-Wert der Titrationsflüssigkeit zwischen pH 6 und 7.

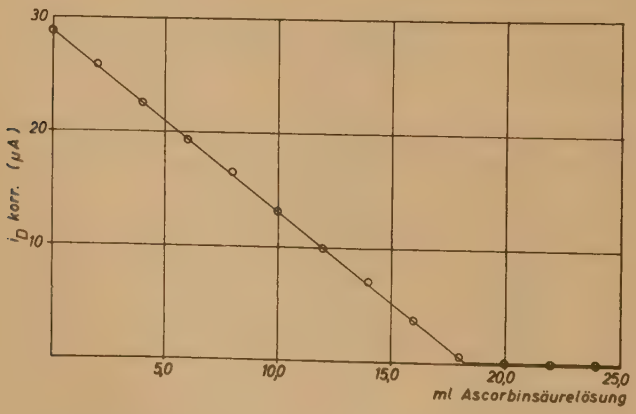


Abb. 7 Titrationsverlauf einer p-Benzochinon-Titration in Natriumsulfat-Leitsalzlösung.
p-Benzochinon-Einwaage: 26,04 mg
p-Benzochinon gefunden: 25,88 mg.

Zur graphischen Auffindung des Äquivalenzpunktes und damit zur Titrationsauswertung wird im allgemeinen eine lineare Abhängigkeit zwischen Ascorbinsäurezusatz und dem konzentrationsabhängigen Diffusionsstrom angestrebt. Dies ist jedoch nur dann zu erwarten, wenn gleiche Anteile der Bürettenflüssigkeit auch gleiche Konzentrationsabnahmen verursachen. Da aber im Verlauf der Titration eine Volumenvermehrung eintritt und die Chinonkonzentration auch durch diese Verdünnung abfällt, ist der registrierte Strom mit einem "Verdünnungsfaktor" zu korrigieren. Mit dieser Korrektur wird die Verdünnung kompensiert und der Diffusionsstrom der zurückbleibenden Chinonmenge auf das Ausgangsvolumen bezogen. Ist V das Volumen der ursprünglichen Titrationsflüssigkeit, v das bereits zugegebene Volumen an Maßlösung, so wird der Korrekturfaktor:

$$f = \frac{V + v}{V}$$

Trägt man die mit dem Faktor f multiplizierten Stromwerte gegen den Verbrauch an Ascorbinsäure-Maßlösung auf, so erhält man die "korrigierte Titrationskurve", die die Möglichkeit einer geradlinigen Extrapolation der Kurvenäste ergibt.

In Abb. 7 ist der Verlauf einer in neutralem Medium mit Ascorbinsäurelösung ausgeführten Chinontitration dargestellt. Nach jedem Ascorbinsäurezusatz wurde der Strom im Chinon-Diffusionsstromgebiet bei einer Gerätespannung von – 1,0 Volt registriert.

Zur besseren Erkennung des Äquivalenzpunktes wurde im allgemeinen nicht wie in Abb. 7 der Gesamttitrationsverlauf graphisch erfaßt, sondern nur der Endbereich, der sich dann in einem günstigeren Maßstab darstellen ließ.

In Tab. 3 sind den Ergebnissen der jodometrischen Chinongehaltsbestimmung die entsprechenden Werte der polarometrischen Titrationen mit einer Ascorbinsäure-Maßlösung gegenübergestellt (vgl. Tab. 1, Seite 19).

Tab. 3 Ergebnisse titrimetrischer Gehaltsbestimmungen von Chinonen.

Chinone	Gehalt	
	jodometr.	ascorbinometr.
p-Benzochinon	99,8 %	99,2 %
Chinhydron	100,1 %	99,5 %
ß-Naphthochinon	93,7 %	94,3 %
ß-naphthochinon-4-sulfonsaures Natrium	99,5 %	99,1 %

Während die jodometrischen Bestimmungen in stark saurem Medium durchgeführt wurden, war das Reaktionsmilieu bei den ascorbinometrischen Titrationen neutral. Die Chinon-Einwaagen lagen bei den polarometrischen Titrationen zwischen 20 und 100 mg. Der jodometrisch ermittelte Gehalt der kristallinen Ascorbinsäure von 99,7 % wurde bei den Titrationsauswertungen berücksichtigt (vgl. Seite 18).

Die in Tab. 3 eingetragenen Ergebnisse sind Mittelwerte aus mindestens drei Bestimmungen. Die Reproduzierbarkeit der jodometrischen Titrationen lag je nach Chinon und dessen Reinheit bei ± 0,3 bis ± 0,8 %. Brauchbare Ergebnisse sind nur dann zu erwarten, wenn keine gefärbten Chinonverunreinigungen die visuelle Endpunktserkennung stört. Bei den einzelnen polarometrischen Titrationen mußte mit einer Ungenauigkeit von ± 0,5 % gerechnet werden.

Da beide Methoden unter Berücksichtigung der erreichbaren Genauigkeit praktisch übereinstimmendeWerte lieferten, war bewiesen, daß diese Chinone unter den gewählten Versuchsbedingungen, d. h. in neutralem Medium unter weitgehendem Licht- und Luftausschluß, durch Ascorbinsäure in quantitativer Reaktion unter Austausch von zwei Elektronen reduziert werden.

In Abwandlung der Versuchsbedingungen wurde bei einigen Versuchen die Ascorbinsäure in das Titriergefäß und die Chinonlösung in die Bürette gegeben. Nach dieser Methode ergab sich beim Chinhydron ein Gehalt von 99,3 %.

Die titrimetrische Überprüfung der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion war also bei den ß-Naphthochinonen und beim p-Benzochinon möglich. Die Stöchiometrie der anderen in dieser Arbeit verwendeten Chinone mußte nach der im nächsten Abschnitt beschriebenen Methode untersucht werden.

2. Reaktionen mit geringem Chinonüberschuß

Die ascorbinometrischen Chinontitrationen hatten ergeben, daß Ascorbinsäure von p-Benzochinon und ß-Naphthochinonen in schneller Reaktion in schwach saurem bzw. neutralem Medium quantitativ oxydiert wird. Da die Titrationen nicht unter den Versuchsbedingungen der kinetischen Messungen ausgeführt werden konnten, waren weitere Versuche zur Klärung der Stöchiometrie erforderlich. Es mußte vor allem geprüft werden, ob im Verlauf langsamer Reaktionen zusätzliche Chinon-Reduktionen durch irgendwelche Dehydroascorbinsäure-Zersetzungsprodukte auftreten. Solche Nebenreaktionen hätten die kinetischen Untersuchungen in Frage gestellt.

Die folgenden Versuche wurden vorzugsweise mit dem für die kinetischen Untersuchungen besonders geeigneten o-Xylochinon ausgeführt. Das Molverhältnis von Ascorbinsäure zu Chinon war bei diesen Reaktionen im allgemeinen etwa 1 : 2. Bei einem geringeren Chinonanteil dauerten die Umsetzungen zu lange, ein größerer Chinonüberschuß wirkte sich nachteilig auf die Genauigkeit der Bestimmung des Chinon-

umsatzes aus. Der Chinonumsatz ergab sich aus der Differenz zwischen Chinonanfangs- und -endkonzentration.

Als Versuchsanordnung kam die auf den Seiten 14 bis 16 ausführlich beschriebene Apparatur zur Anwendung. Die Ascorbinsäurelösung mußte unter Stickstoff hergestellt werden und wurde auch im Aufsatzgefäß weiter begast. Die Chinonlösung war unter Lichtausschluß herzustellen und brauchte erst in der Meßzelle durch Stickstoffbegasung vom gelösten Sauerstoff befreit zu werden.

Beim Start der Reaktion wurde die Ascorbinsäurelösung mit Stickstoff in wenigen Sekunden in das Meßgefäß gedrückt. Nach kurzem Umrühren durch erneutes Begasen und anschließender Beruhigung der Reaktionslösung konnte dann im Chinon-Diffusionsstromgebiet bei einer Gerätespannung von – 1,0 Volt der Strom und damit die Chinonkonzentration registriert werden. Eine kontinuierliche Strommessung war natürlich nur für die auf Seite 59 beschriebenen kinetischen Auswertungen dieser Versuche von Interesse. Zur Überprüfung der Stöchiometrie brauchten nur die Endkonzentrationen bestimmt zu werden.

Da die polarographischen Stufen von Ascorbinsäure und o-Xylohydrochinon im gleichen Spannungsbereich liegen und sich überlagern, waren Konzentrationsermittlungen des o-Xylohydrochinons während der Reaktionen nicht möglich. Erst am Ende der Umsetzungen, wenn alle Ascorbinsäure verbraucht war und die gesamte anodische Stufe dem o-Xylohydrochinon zugeschrieben werden konnte, ließ sich das Hydrochinon quantitativ bestimmen.

Zur Auswertung der Versuche wurde der eingesetzten Ascorbinsäuremenge der Chinonverbrauch und das entstehende o-Xylohydrochinon gegenübergestellt. Der Chinonverbrauch ergab sich aus der Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration des Chinons. Die Anfangskonzentration ließ sich wegen der Verluste bei der Stickstoffbegasung nicht aus der Chinoneinwaage bestimmen, sondern mußte polarometrisch vor der Reaktion unter Berücksichtigung der Verdünnung beim Zulauf der Ascorbinsäurelösung ermittelt werden. Die Hydrochinonendkonzentration ließ sich aus dem Diffusionsstrom errechnen, der nach der Reaktion bei einer Gerätespannung von – 0,15 Volt gemessen wurde.

Von der in einer Waschflasche unter Stickstoff hergestellten Ascorbinsäurelösung kam nur ein bestimmter Anteil in das Aufsatzgefäß. Die Ascorbinsäureanfangskonzentration ergab sich demnach aus der Einwaage, der Lösungsmenge, die aus dem Aufsatzgefäß in die Meßzelle floß, und dem Gesamtreaktionsvolumen.

Da bei polarographischen Bestimmungen Konzentrationen und keine Absolutmengen erfaßt werden, wurden bei den Auswertungen der Stöchiometrieversuche Konzentrationen miteinander verglichen. Die im Folgenden angegebenen Umsatzmengen beziehen sich also auf 1 Liter Reaktionslösung.

Bei zwei Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen im Acetatpuffer mit einem pH-Wert von 4,00 ergaben sich bei einem zweifach molaren Chinonüberschuß folgende Werte:

Ascorbinsäure-verbrauch	:	1,027 mMol/Ltr.	0,454 mMol/Ltr.
o-Xylochinon-verbrauch	:	1,023 mMol/Ltr.	0,453 mMol/Ltr.
o-Xylohydrochi-nonbildung	:	1,018 mMol/Ltr.	0,451 mMol/Ltr.

Bei Wiederholungen lagen die Werte eines Versuchs nie mehr als 2 % auseinander. Die Reaktionszeit betrug unter diesen Bedingungen bei einem zweifach molaren Chinonüberschuß etwa 2 Stunden. Die Chinonstufe blieb auch im Verlauf von weiteren 3 bis 4 Stunden konstant, und die Erhöhung der Hydrochinonstufe war im gleichen Zeitraum nie größer als 1 %. Damit war gesichert, daß unter diesen Versuchsbedingungen die kinetischen Messungen durch eine zusätzliche Chinonreduktion nicht gestört werden.

Auch im Phosphatpuffer mit einem pH von 6,0 stimmte der o-Xylochinonverbrauch und die o-Xylohydrochinonbildung mit der eingesetzten Ascorbinsäuremenge gut überein. Der Chinondiffusionsstrom erreichte nach etwa 12 Minuten einen konstanten Wert, blieb eine Zeitlang unverändert und fiel dann allmählich ab. Die Hydrochinonstufe wurde im gleichen Zeitraum langsam größer. Zwar fehlten nach insgesamt 2 Stunden nur 6 % des Rest-Chinons der Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion, doch schien es unerläßlich, der Ursache dieser Chinonverluste nachzuspüren.

Vor der Ausführung kinetischer Untersuchungen war zu klären, ob die zusätzlichen Chinonreduktionen in geringem Umfang bereits während der Hauptreaktion stattfinden und dadurch die Auffindung von Reaktionszeitgesetzen erschweren. Hierzu waren die Geschwindigkeiten der nachträglichen Chinonreaktionen mit den Reaktionszeiten der Chinon/Ascorbinsäure-Umsetzungen in Beziehung zu bringen.

Die Hauptreaktion wurde als beendet betrachtet und die zugehörige Zeit mit t_E bezeichnet, wenn sich die Chinonkonzentration nicht mehr veränderte bzw. die Chinonabnahme pro Zeiteinheit einen konstanten Wert oder ein Minimum erreichte. Die Auffindung des Reaktionsendes war im allgemeinen nicht schwer, da die Folgereaktionen langsam einsetzten und die Geschwindigkeiten sich erst später steigerten. Im Hinblick auf eventuelle Störungen der kinetischen Untersuchungen wurden die Chinonverluste auf Reaktionszeit-Einheiten bezogen.

In Tab. 4 sind die im Anschluß an die Hauptreaktion unter verschiedenen Versuchsbedingungen eingetretenen Chinonverluste von o-Xylochinon und p-Benzochinon eingetragen. Man erkennt, daß Haupt- und Folgereaktion nacheinander ablaufen. Im Zeitraum t_E bis $2 \cdot t_E$ fand bei keinem der Versuche eine Verminderung der Restchinonkonzentration statt. Mit steigendem pH-Wert nimmt die Geschwindigkeit der Nachreaktion zu. Auffallend ist der beschleunigende Einfluß der Phosphationen. Da im Zeitraum t_E bis $2 \cdot t_E$ die Chinon- und Hydrochinonstufen konstant blieben, war eine quantitative Auswertung auch dieser Versuche möglich. Der Ascorbinsäureverbrauch, die Chinonabnahme und die Hydrochinonbildung stimmten bei allen Hauptreaktionen gut überein. Die

Werte eines Versuches lagen nie mehr als 2 % auseinander.

Somit war bewiesen, daß die Ascorbinsäureoxydation durch o-Xylochinon und p-Benzochinon unter den gewählten Versuchsbedingungen in quantitativer Reaktion unter Austausch von zwei Elektronen verläuft und Folgereaktionen erst später einsetzen. Nach den ersten Versuchen in Phosphatpuffern mußte befürchtet werden, daß o-Xylochinon für längere Zeit in Gegenwart von Phosphationen nicht beständig ist, zumal dieses Chinon nach FIESER und ARDAO (33) in Phosphatpuffern bei pH 7 nicht haltbar sein sollte. Bei dieser Literaturmitteilung fehlen leider nähere Angaben über die Aufbewahrung der Chinonlösung. Eine Nachprüfung ergab, daß o-Xylochinon unter Licht- und Luftausschluß im Phosphatpuffer bei pH 7 drei Stunden lang völlig beständig ist. Lichteinwirkung führt zur schnellen Zersetzung.

Tab. 4 pH- und Puffersubstanzeinfluß auf die Beständigkeit des Restchinons nach einer Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion. c_o Chinon: 0,8 mMol/Liter; c_o Ascorbinsäure: 0,4 mMol/Ltr.

Chinon	Puffer	pH	t_E (min)	Chinonabnahme in % des Restchinons im Zeitraum von		
				t_E bis $2 \cdot t_E$	t_E bis $4 \cdot t_E$	t_E bis (t_E + 2 h)
o-Xylochinon	Acetat-puffer	4,0	120	0	0	0
o-Xylochinon	Acetat-puffer	5,0	20	0	0	1
o-Xylochinon	Phosphat-puffer	6,0	12	0	1	7
o-Xylochinon	Phosphat-puffer	7,0	5	0	5	65
o-Xylochinon	Veronal-puffer	7,0	5	0	0	6
p-Benzochinon	Phosphat-puffer	7,0	0,3	0	0	65
p-Benzochinon	Veronal-puffer	7,0	0,3	0	0	4

Da p-Benzochinon Ascorbinsäure wesentlich schneller oxydiert als o-Xylochinon, die Geschwindigkeiten der Nachreaktionen bei beiden Chinonen jedoch fast gleich sind, kann man annehmen, daß für die Nachreaktionen nicht die Chinone, sondern reduzierende Dehydroascorbinsäure-Zersetzungsprodukte verantwortlich sind.

Es ist durchaus denkbar, daß die zusätzlichen Chinonverluste von der durch Dehydroascorbinsäure-Zersetzung entstehenden stark reduzierenden 2. 3-Diketogulonsäure hervorgerufen werden.

Diese Annahme wird durch mehrere Parallelen zwischen den Chinonnachreaktionen und der in der Literatur beschriebenen Dehydroascorbinsäure-Zersetzung unterstützt. Im pH-Bereich um 4 findet praktisch keine Dehydroascorbinsäure-Zersetzung zur 2. 3-Diketogulonsäure (28) und keine Chinonnachreaktion statt. Mit steigendem pH-Wert nehmen die Nachreaktionsgeschwindigkeit und die Geschwindigkeit der Dehydroascorbinsäure-Zersetzung zu. Nach MOLL und WIETERS (5) ist die Dehydroascorbinsäure-Zersetzungsgeschwindigkeit nicht nur vom pH-Wert, sondern auch von der Puffersubstanz abhängig. Ein entsprechendes Verhalten konnte auch für die Chinon-Nachreaktionen beobachtet werden.

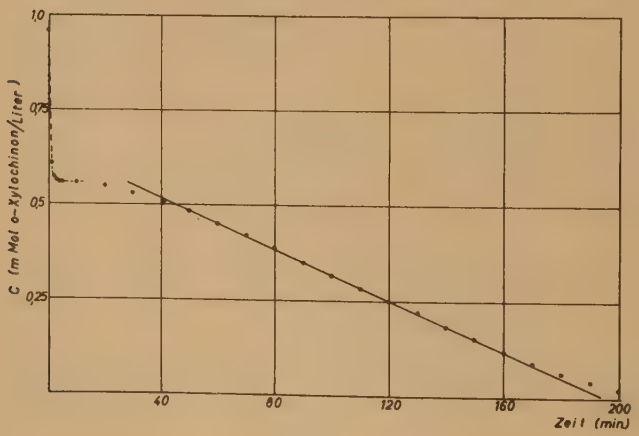


Abb. 8 Chinonabnahme im Verlauf einer Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion in Phosphatpuffer bei pH 7, 0.
c_0 Chinon : 0,960 mMol/Liter
c_0 Ascorb. : 0,400 mMol/Liter.

In Abb. 8 ist der zeitliche Verlauf der Chinonabnahme einer Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion in Phosphatpuffer bei pH 7 dargestellt. Nach Tab. 4 findet unter diesen Versuchsbedingungen eine besonders schnelle Nachreaktion statt. In Abb. 8 erkennt man deutlich, daß Haupt- und Folgereaktion nacheinander ablaufen. Die Restchinon-Konzentration der ersten Umsetzung fällt nach einer kurzen Induktionsperiode zunächst mit wachsender, dann mit konstanter Geschwindigkeit ab. Im Bereich von 90 bis 10 % des Restchinons folgt die Chinonabnahme einer Reaktion nullter Ordnung. Als Geschwindigkeitskonstante wurde $k_0 = 3,22$ $\mu Mol \cdot Ltr.^{-1} \cdot min^{-1}$ gefunden. Der Versuch war gut reproduzierbar. Da ein Zusatz von Titriplex III keinen Einfluß auf die Nachreaktion hatte, ist es unwahrscheinlich, daß eine Schwermetallkatalyse den Reaktionsablauf bestimmt.

Da im Rahmen der vorliegenden Arbeit vor allem Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen interessierten, wurden die Folgereaktionen nicht weiter untersucht. Ihre Gesetzmäßigkeiten sollen in einer späteren Arbeit geklärt werden.

3. Reaktionen mit geringem Ascorbinsäureüberschuß

Die Stöchiometrieversuche mit einem Chinonüberschuß hatten für schwach saure und neutrale Lösungen eine quantitative Reaktion zwischen o-Xylochinon und Ascorbinsäure bestätigt. Da die meisten kinetischen Untersuchungen aber mit einem Ascorbinsäureüberschuß ablaufen sollten, schien eine Überprüfung der Umsetzung auch unter diesen Bedingungen angebracht.

Bei Reaktionen mit Chinonüberschuß blieben am Ende Chinon und Hydrochinon übrig, von denen sich das Chinon kathodisch und das Hydrochinon anodisch bestimmen ließ. Bei einem Ascorbinsäureüberschuß enthielt die Endlösung Ascorbinsäure und Hydrochinon, die jedoch nicht nebeneinander bestimmbar waren, da beide Stufen im gleichen Spannungsbereich ansteigen. Der anodische Diffusionsstrom setzte sich in diesem Fall aus einem Ascorbinsäure- und einem Hydrochinonanteil zusammen. Eine Kontrolle der Reaktion mit einem Ascorbinsäureüberschuß war also nur dadurch möglich, daß der Diffusionsstrom der Endreaktionslösung mit einem aus der Chinon- und Ascorbinsäureanfangskonzentration berechneten theoretischen Strom verglichen wurde. Da bei gleicher Konzentration eine Ascorbinsäurelösung einen etwas geringeren Diffusionsstrom aufweist als eine o-Xylohydrochinonlösung, mußte im Verlauf einer Reaktion, bei der Ascorbinsäure verbraucht und Hydrochinon gebildet wird, der anodische Gesamtstrom etwas ansteigen.

Die Durchführung dieser Versuche erfolgte genau wie bei einer Reaktion mit einem Chinonüberschuß, nur die Ascorbinsäure- und Chinoneinwaagen waren verändert. Im Folgenden ist die Auswertung einer bei pH 4,00 im Acetatpuffer abgelaufenen Reaktion zwischen Ascorbinsäure (AS) und o-Xylochinon (o-XCh) angeführt:

$c_{0\ AS}$: 1,1700 mMol/Liter

$c_{0\ o\text{-}XCh}$: 0,5003 mMol/Liter

$c_{E\ (AS)}$: 0,6697 mMol/Liter

Die Ascorbinsäure-Endkonzentration ($c_{E\ (AS)}$) wurde theoretisch aus den Ascorbinsäure- und o-Xylochinon-Startkonzentrationen errechnet. Die Eichwerte für Ascorbinsäure (AS) und o-Xylohydrochinon (o-XHCh) waren unter diesen Versuchsbedingungen:

1 mMol AS/Liter : 8,386 µA
1 mMol o-XHCh/Liter: 8,756 µA

Der bei einer Gerätespannung von – 0,15 Volt zu erwartende anodische Strom (i) errechnete sich aus den Diffusionsströmen (i_D) für Ascorbinsäure und o-Xylohydrochinon und dem Reststrom.

i_D für 0,6697 mMol AS/Liter = 5,616 µA
i_D für 0,5003 mMol o-XHCh/Liter = 4,381 µA
i_0 (Reststrom) = 0,230 µA

10,227 µA

$i_{gef.}$ = 10,25 µA
$i_{ber.}$ = 10,23 µA

Der berechnete und der gefundene Stromwert stimmten gut überein. In Verbindung mit den vorangegangenen Stöchiometrieversuchen war somit geklärt, daß bei den kinetischen Untersuchungen der Ascorbinsäureoxydation durch o-Xylochinon in schwach saurem Medium keine Störungen durch Nebenraktionen zu erwarten waren.

IV. Untersuchungen der Kinetik

1. Reaktionen mit großem Ascorbinsäureüberschuß

a. Ohne besondere Zusätze

Die ersten Versuche zur Auffindung grundlegender kinetischer Gesetzmäßigkeiten der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion hatten unter einfachsten Bedingungen zu erfolgen. Alle Faktoren, die zur Beeinflussung des Reaktionsgeschehens in der Lage waren, sollten während dieser Umsetzungen weitgehend konstant gehalten werden. Hierzu gehörten nicht nur die Temperatur und der pH-Wert, sondern auch die Konzentration des einen Reaktionspartners. Um während der Umsetzung die Konzentration einer Komponente praktisch konstant zu halten, muß diese in einem großen Überschuß vorhanden sein. Nach SKRABAL (54) reicht zur Auffindung der Reaktionsgesetze ein Molverhältnis von 10 : 1 aus.

Während der Reaktion ließ sich nur das Chinon quantitativ bestimmen. Es war daher selbstverständlich, daß die Ascorbinsäure und nicht das Chinon im Überschuß angewendet wurde. Die Beschreibung der Versuchsanordnung erfolgte bereits auf den Seiten 14 bis 16 . Die Versuchsdurchführung entsprach weitgehend den Messungen zur Aufklärung der Stöchiometrie (siehe Seite 33). Auch hier wurde beim Start der Reaktion die Ascorbinsäurelösung aus dem Aufsatzgefäß in die Meßzelle gedrückt, in der sich die Chinonlösung befand. Die erste reproduzierbare Chinonbestimmung war erst nach völliger Beruhigung im Meßgefäß, d. h. etwa 10 Sekunden nach der Ascorbinsäurezugabe, möglich. Die Chinonanfangskonzentration ergab sich aus der unmittelbar vor dem Start gemessenen Chinonkonzentration unter Berücksichtigung der beim Zulauf der Ascorbinsäurelösung entstandenen Verdünnung.

Während der Reaktion wurde der Strom bei fester im Chinondiffusionsstromgebiet liegender Spannung fortlaufend registriert. Da das Schreibpapier mit konstanter Geschwindigkeit ablief, entstand ein Strom/Zeit-Diagramm, das sich mit Hilfe von Eichwerten in ein Konzentrations/Zeit-Diagramm umrechnen ließ.

Die ersten Versuche dieser Reihe wurden in Acetatpuffer bei pH 4, 00 durchgeführt. Dieser pH-Wert schien besonders geeignet, da bei ihm die Bildung der reaktionsbeeinflussenden Dehydroascorbinsäure-Zersetzungsprodukte noch sehr langsam erfolgt. Alle Versuche zur Auffindung kinetischer Gesetzmäßigkeiten wurden bei der für solche Untersuchungen üblichen Standardtemperatur von 25, 0°C ausgeführt.

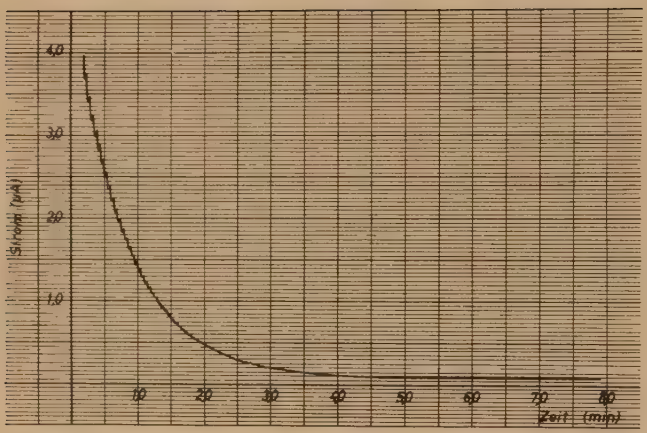


Abb. 9 Polarometrische Aufnahme einer Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion im Acetatpuffer bei pH 4,00 mit einem zehnfachen Ascorbinsäureüberschuß bei Reaktionsbeginn. c_0 Ascorbinsäure : 5,00 mMol/Liter.

Abb. 9 zeigt eine polarometrische Aufnahme einer o-Xylochinonreduktion mit einem großen Ascorbinsäureüberschuß, bei der zur Demonstration des Reaktionsverlaufs die Registrierempfindlichkeit des Polarographen nicht verändert wurde. Bei allen anderen Versuchen, die für eine kinetische Auswertung in Frage kamen, wurde die Registrierempfindlichkeit mit fallender Chinonkonzentration selbstverständlich heraufgesetzt, damit auch am Reaktionsende eine genaue Konzentrationsermittlung möglich war.

Die in Abb. 9 gezeigte Chinonabnahme ließ einen logarithmischen Konzentrationsabfall und damit eine Reaktion 1. Ordnung erkennen.

Verläuft die Reduktion eines Chinons (Ch) nach einer Reaktion 1. Ordnung, muß sich die Reaktionsgeschwindigkeit (RG) durch folgende Beziehung beschreiben lassen:

$$RG = -\frac{dc_{Ch}}{dt} = k_1 \cdot c_{Ch} \qquad (6)$$

Die Integration ergibt:

$$\log \frac{c_1\,Ch}{c_2\,Ch} = 0,4343 \cdot k_1 \cdot (t_2 - t_1) \qquad (7)$$

Setzt man $c_1 = c_0$, $t_1 = t_0 = 0$,

$c_2 = c$, $t_2 = t$,

so erhält man bei der Auflösung nach log c_{Ch}:

$$\log c_{Ch} = -0,4343 \cdot k_1 \cdot t + \log c_{0\,Ch} \qquad (8)$$

Wird in einem Diagramm log c_{Ch} gegen die Zeit (t) aufgetragen, ergibt sich bei einer Reaktion 1. Ordnung nach (8) eine Gerade, deren Neigung von der Geschwindigkeitskonstanten k_1 abhängt.

Wie man nach der Gleichung (7) leicht erkennt, ist die Geschwindigkeitskonstante k_1 konzentrationsunabhängig. Für ihre Bestimmung sind Konzentrationsmessungen also nicht unbedingt erforderlich. Da der Diffusionsstrom der Chinonkonzentration nach der Gleichung von ILKOVIČ (5) (Seite 25) proportional ist (9), geht die Beziehung (7) in Gleichung (10) über.

$$c_{Ch} = K \cdot i_D \qquad (9)$$

$$\log \frac{K \cdot (i_D)_1}{K \cdot (i_D)_2} = \log \frac{(i_D)_1}{(i_D)_2} = 0,4343 \cdot k_1 \cdot (t_2 - t_1) \qquad (10)$$

Bei diesen Versuchen konnte daher auf Eichkurven verzichtet werden, was eine erhebliche Vereinfachung darstellte. Zwar ist die Aufstellung von polarographischen Eichkurven im allgemeinen nicht schwierig, jedoch war die Bestimmung von Eichwerten bei den leicht flüchtigen Chinonen, wie auf Seite 26 ersichtlich, mit erheblichem Aufwand verbunden.

Die Anwendung der Gleichung (9) für Konzentrationsermittlungen setzt die absolute Konstanz der Kapillareigenschaften und damit des Faktors K voraus. Da die Quecksilbertropfkapillaren wegen ihrer minimalen lichten Weite gegen Verunreinigungen äußerst empfindlich sind, kann sich die Größe K im Laufe der Zeit ändern. Es war daher ein großer Vorteil, daß bei diesen kinetischen Untersuchungen der Absolutwert von K für die k_1 -Wert-Berechnung nach Gleichung (10) nicht bekannt zu sein brauchte und nur während eines Versuches konstant sein mußte. Aus diesem Grunde wurden die Versuchsbedingungen auch später bei der Klärung verschiedener kinetischer Fragen möglichst so gewählt, daß eine Reaktion 1. Ordnung zu erwarten war.

Die Versuchsauswertung, d. h. die Ermittlung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten, kann ganz allgemein algebraisch oder graphisch erfolgen. Bei der algebraischen Auswertung ergibt sich der k_1 -Wert nach der Gleichung (10) beim Einsetzen von zwei i_D/t-Wertepaaren, und bei der graphischen Methode wird der k_1 -Wert nach Gleichung (8) unter Berücksichtigung der Beziehung (9) dem Anstieg der Geraden im log i_D/t-Diagramm entnommen.

Während die algebraische k_1 -Wert-Berechnung objektivere Werte liefert, benötigt die graphische Methode weniger Zeit und gibt einen besseren Überblick über den Reaktionsverlauf. Da nach HUISGEN (55) die nach normalen algebraischen Methoden errechneten k_1 -Werte nicht genauer sind als die graphisch ermittelten, wurden die k_1 -Werte in der vorliegenden Arbeit im allgemeinen graphisch bestimmt. Das erschien besonders deshalb vertretbar, weil bei diesen Versuchen vor allem die Form der Zeitgesetze und nicht die absoluten kinetischen Werte ermittelt werden sollten. Die einzelnen kinetischen Werte waren im Rahmen dieser Untersuchungen verhältnismäßig uninteressant, weil die Reaktionsgeschwindigkeiten in hohem Maße vom Elektrolyteinfluß der Puffersubstanzen abhingen.

Bei der graphischen Auswertung der ersten Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen, die mit einem zehnfachen Ascorbinsäureüberschuß in Acetatpuffer bei pH 4,00 abliefen, lagen die Meßpunkte bis zu einem 99,5 - 99,8%igen Umsatz auf einer Geraden. Das war natürlich nur dadurch möglich, daß sich auch die geringen Chinonkonzentrationen am Reaktionsende durch Erhöhung der Registrierempfindlichkeit des Polarographen mit großer Genauigkeit bestimmen ließen. Aber dennoch war der Verlauf nicht verständlich, da nach einem 90%igen Umsatz nur noch 9/10 der Ascorbinsäuremenge vorhanden sein konnte und dadurch am Reaktionsende eine geringere Geschwindigkeit zu erwarten war. Obwohl dieser Reaktionsverlauf eine recht genaue k_1 -Wert-Ermittlung erlaubte, waren die erhaltenen Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten schlecht reproduzierbar. Die Schwankungen von mehreren Prozenten ließen sich weder durch Unregelmäßigkeiten bei der polarographischen Meßanordnung noch mit Fehlern bei der Versuchsdurchführung erklären. Die unterschiedlichen Ergebnisse mußten eine andere Ursache haben.

b. Der Einfluß von Kupferionen und Äthylendiamintetraessigsäure auf die Reaktionsgeschwindigkeit

Schlecht reproduzierbare Reaktionsgeschwindigkeiten waren bereits von der Ascorbinsäureoxydation durch Luftsauerstoff bekannt. Geringste Schwermetallspuren, die sich im allgemeinen nicht ausschließen lassen, werden dafür verantwortlich gemacht. Nach MAPSON (56) und GRAB (57) bewirken bereits Kupferspuren in einer Konzentration von 10^{-8} Mol pro Liter eine Katalyse der Ascorbinsäureautoxydation. Nach SIEFFERT (6) hat sogar noch ein Zusatz von 10^{-12} Mol Kupferionen pro Liter einen nachweisbaren Einfluß auf die Gehaltsabnahme einer Ascorbinsäurelösung. Die Vermutung lag nahe, daß die Unregelmäßigkeiten der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen ebenfalls durch die katalytische Wirkung von Schwermetallspuren hervorgerufen werden. Eine Nachprüfung ergab, daß Kupfer(II) -ionen einen ganz erheblichen Einfluß auf die Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion haben. Die Geschwindigkeit wird vergrößert, und die Reaktionsordnung liegt unter 1.

Nach JÄGER (58) wird die katalytische Wirkung der Kupferionen bei der Ascorbinsäureautoxydation durch eine Komplexbildung mit Äthylendiamintetraessigsäure aufgehoben. Auch dieser Effekt konnte bei der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion beobachtet werden. Enthielten die Reaktionslösungen äthylendiamintetraessigsaures Natrium, das als Titriplex III von der Firma E. MERCK bezogen wurde, gab es bei Versuchen mit und ohne Kupferionenzusatz einheitliche gut reproduzierbare Geschwindigkeitskonstanten.

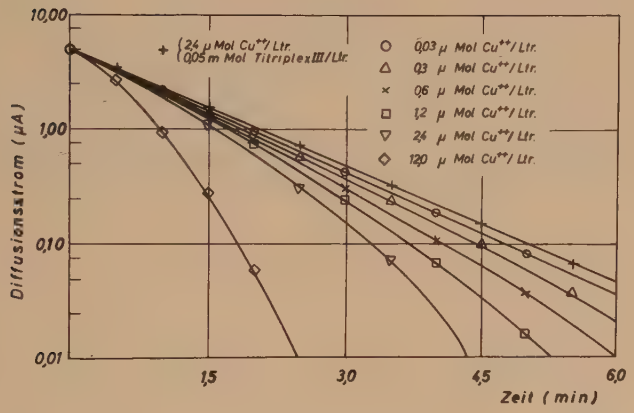


Abb. 10 Einfluß von Kupfer(II)-ionen und Titriplex III auf den Verlauf einer Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion im Acetatpuffer bei pH 4,00. Chinondiffusionsstrom-Abnahme.
c_0 Ascorbinsäure: 5,00 mMol/Liter
c_0 o-Xylochinon : 0,50 mMol/Liter.

In Abb. 10 wird der Einfluß von Kupfersulfat und Titriplex III auf den Verlauf einer Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion gezeigt. Mit abnehmender Kupferkonzentration nähern sich die Kurven des halblogarithmischen Diagramms dem nichtkupferkatalysierten Reaktionsverlauf. 0,05 mMol Titriplex III pro Liter hoben die Kupferwirkung von 2,4 µMol pro Liter restlos auf. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante dieses Versuchs lag mit $k_1 = 0,814\ min^{-1}$ innerhalb der Fehlergrenze der ohne Kupferzusatz bei Titriplex-Stabilisierung ermittelten Geschwindigkeitskonstanten (siehe Seite 45).

Eine genaue Bestimmung der Kupfergrenzkonzentration, die gerade eben noch einen geringen nachweisbaren Einfluß auf die Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion ausübt, war nicht möglich, da auch die Versuche mit sehr geringen Kupferzusätzen nicht ganz einheitliche Ergebnisse lieferten. Aus den Mittelwerten mehrerer Versuche war zu schließen, daß die Geschwindigkeitserhöhung durch einen Kupferzusatz von 10^{-8} Mol pro Liter im allgemeinen nicht wesentlich über 1 % liegt.

Auf Grund der vorliegenden Versuchsergebnisse kann unter Berücksichtigung der Kupfereffekte bei der Ascorbinsäureautoxydation vermutet werden, daß die schlechte Reproduzierbarkeit der auf Seite 42 beschriebenen Reaktionen durch geringste Schwermetallspuren, die irgendwie in die Reaktionslösung gelangen, hervorgerufen werden.

Da in einigen Fällen erst ein Titriplex-III-Zusatz zu reproduzierbaren Reaktionsgeschwindigkeiten geführt hatte, wurde dieser Komplexbildner bei möglichst vielen Versuchen den Reaktionslösungen zugesetzt. Bei den polarographischen Stöchiometrieversuchen wurde darauf verzichtet, da Titriplex III eine eigene anodische Stufe gibt. Auf die stöchiometrischen Umsetzungen hatte Titriplex III keinen Einfluß. Bei allen kinetischen Versuchen enthielten die Reaktionslösungen 0,05 mMol Titriplex III pro Liter. Die Chinonstufen wurden nicht beeinflußt.

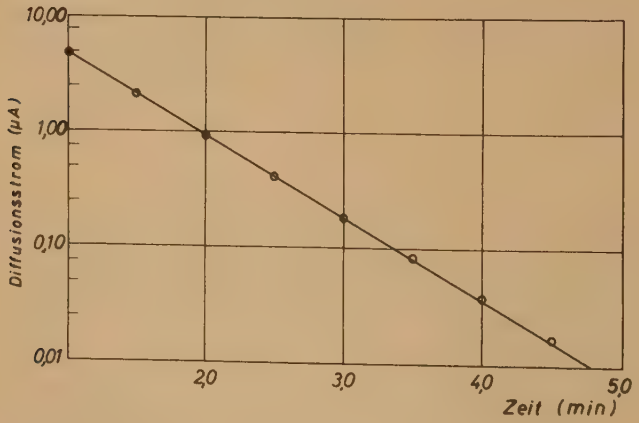


Abb. 11 Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion im Acetatpuffer bei pH 4,00. Chinondiffusionsstrom-Abnahme.
c_o Ascorbinsäure: 5,00 mMol/Liter
c_o o-Xylochinon : 0,50 mMol/Liter
0,05 mMol Titriplex III/Liter.

In Abb. 11 ist der Reaktionsverlauf einer Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion mit einem zehnfachen Ascorbinsäureüberschuß zu Reaktionsbeginn in Acetatpufferlösung bei pH 4,0 im halblogarithmischen Maßstab dargestellt. Der Schwermetalleinfluß war wie bei allen folgenden kinetischen Versuchen durch einen Titriplex-III-Zusatz ausgeschaltet. Bis zu einem 90%igen Umsatz lagen die Meßpunkte bei diesem und ähnlichen Versuchen auf einer Geraden, dann aber im allgemeinen etwas darüber. Zur graphischen Auswertung wurden der Geraden entsprechende log i_D-Werte in Gleichung (10) (Seite 41) eingesetzt. Es ergab sich eine Geschwindigkeitskonstante von $k_1 = 0,811\ min^{-1}$. Der Mittelwert mehrerer dieser Versuche lag bei $k_1 = 0,809\ min^{-1}$.

Die Reproduzierbarkeit der mittleren k_1 – Werte dieser Versuche lag bei ±1 %. Bei der algebraischen und graphischen Auswertung eines Versuchs ergaben sich stets gut übereinstimmende k_1 –Werte. Im allgemeinen lagen sie nie mehr als 1 % auseinander. Wie aus den Ausführungen auf den Seiten 49 bis 53 hervorgeht, sind die k_1 –Werte wegen der Ascorbinsäureabnahme im Verlauf der Reaktion vom Verhältnis der Ascorbinsäure/Chinon-Anfangskonzentration abhängig. Deshalb stellen diese mittleren Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten nur Näherungswerte dar.

Bei allen folgenden kinetischen Versuchen wurden die k_1 –Werte nach der einfacheren graphischen Methode ermittelt und die Geraden wie in Abb. 11 gezeichnet.

Auch andere Chinone, deren Reaktionsgeschwindigkeit bei Umsetzungen mit Ascorbinsäure eine polarographische Registrierung des Reaktionsverlaufs unter den gleichen Versuchsbedingungen erlaubte, wurden in diese Versuchsserie miteinbezogen. Im log i_D/Zeit-Diagramm lagen ihre Meßpunkte wie in Abb. 11 zunächst auf einer Geraden, dann etwas darüber. In Tab. 5 sind die k_1 –Werte dieser Chinone und ihre Halbstufenpotentiale für pH 4,00 als Maß für ihr Oxydationsvermögen eingetragen (vgl. Tab. 2, Seite 23).

Als Adrenochrom wurde das nach WIESNER (36) durch fermentative Luftoxydation erhaltene Adrenalinoxydationsprodukt bezeichnet. Die Oxydation erfolgte mit Polyphenoloxydase (siehe Seite 17) und reinem Sauerstoff in verdünnter Citratpufferlösung im optimalen Wirkungsbereich des Ferments bei pH 6,2. Der Citratpuffer war aus 1/100-molarer Trinatriumcitratlösung und 1/100-normaler Schwefelsäure hergestellt. Die enzymatische Oxydation wurde gewählt, weil sie schonend abläuft und keine Reaktionsprodukte entstehen läßt, die die polarographische Chinonbestimmung stören. Durch die Zugabe eines genau berechneten Essigsäure/Acetat-Gemisches wurde der pH-Wert des Citratpuffers in den schwach sauren Bereich verschoben. Nach dem Zulauf der Ascorbinsäurelösung hatte das Reaktionsgemisch den gewünschten pH-Wert von 4,00.

Tab. 5 Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen im Acetatpuffer bei pH 4,00.
c_0 Ascorbinsäure: 5,00 mMol/Liter
c_0 Chinon : 0,5 mMol/Liter
0,05 mMol Titriplex III/Liter.

Chinon	$E_{1/2}$ (Volt)	k_1 (min^{-1})
o-Xylochinon	+ 0,08	0,809
m-Xylochinon	+ 0,07	1,061
α-Naphthochinon	− 0,05	0,0499
Adrenochrom	− 0,08	0,832

Durch diese Versuche wurde bewiesen, daß Chinone verschiedener Konstitution bei einem Ascorbinsäureüberschuß und einem pH von 4,00 in einer Reaktion 1. Ordnung reduziert werden.

c. Der Einfluß von metallischem Quecksilber, Glas und Luft auf die Reaktionsgeschwindigkeit

Die bisher beschriebenen kinetischen Versuche hatten unter konstanten Versuchsbedingungen gut reproduzierbare Werte ergeben. Um zu allgemein gültigeren Aussagen zu kommen, waren alle Faktoren, die einen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit haben konnten, aufzufinden und näher zu charakterisieren. Zunächst sollten die Einflüsse, die mit der Meßanordnung zusammenhingen, untersucht werden. Als Reaktionsmedium kam auch für diese Versuche der in der vorliegenden Arbeit am meisten verwendete Acetatpuffer mit einem pH-Wert von 4,00 zur Anwendung.

Die Versuche mit einem Kupferzusatz hatten ergeben, daß Schwermetallionen den Reaktionsablauf wesentlich beeinflussen können. Es war ferner zu klären, ob das metallische Quecksilber der Tropfelektrode auf die Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion einwirken kann. Es war denkbar, daß die Reaktionen durch Grenzflächenkatalyse an der Quecksilberoberfläche oder durch Spuren von Quecksilberionen, die sich vielleicht durch irgendwelche aktiven Reaktionszwischenprodukte bilden, beeinflußt werden.

Zwar wurde die Hauptmenge des abtropfenden Quecksilbers aus der Meßzelle abgeführt, jedoch kam die Reaktionslösung laufend mit den neu gebildeten Quecksilbertropfen und dem oberen Ende der abfließenden Quecksilbersäule in Berührung. Zur Überprüfung der Quecksilbereinwirkung wurde die gesamte Bodenfläche der Meßzelle durch Heben des Quecksilber-Niveaugefäßes mit metallischem Quecksilber angefüllt und somit die der Reaktionslösung angebotene Quecksilberober-

fläche um das Zwei- bis Dreihundertfache vergrößert. Da das erhöhte Quecksilberangebot den Reaktionsverlauf gegenüber normalen Umsetzungen nicht veränderte, war bewiesen, daß das Quecksilber der Tropfelektrode unter den gewählten Versuchsbedingungen keinen Einfluß auf die Reaktion ausübt.

Glaswände können durch Katalyse chemische Reaktionen beeinflussen. Durch Zusatz von Scherben aus Jenaer Geräteglas, dem Material des Meßgefäßes, wurde die der Reaktionslösung angebotene Glasoberfläche verdoppelt. Hierdurch traten jedoch keine Veränderungen der Reaktionsgeschwindigkeiten ein. Damit war bestätigt, daß die Glaswände praktisch keine katalytische Wirkung ausüben und daß es sich bei der Ascorbinsäureoxydation durch o-Xylochinon tatsächlich um eine homogene Reaktion handelt.

Vorversuche hatten gezeigt, daß geringe Sauerstoffspuren, die durch die nichtgefetteten Schliffe in das Meßgefäß diffundieren, durch einen schwachen über die Reaktionslösung geleiteten Stickstoffstrom sofort herausgespült werden und nicht in die Lösung gelangen. Im Hinblick auf besonders ungünstige Versuchsbedingungen schien es jedoch angebracht, die Wirkung von Sauerstoffspuren auf den Reaktionsverlauf zu kennen. Die Kenntnis des Sauerstoffeinflusses war ferner wichtig für die auf den Seiten 8 bis 10 beschriebenen Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen der angewandten Chemie, die fast alle in Gegenwart von Luft ablaufen. Zur Klärung der Sauerstoffwirkung wurde eine normale Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion in Gegenwart von Luft ausgeführt. Die Autoxydation der Ascorbinsäure war durch einen Titriplex-Zusatz ausgeschaltet. Sowohl die Chinon- als auch die Ascorbinsäurelösung wurde vor dem Start zum Zweck der Gleichgewichtseinstellung bei 25° C mit Luft gesättigt.

Der Chinondiffusionsstrom ergab sich aus dem registrierten Strom nach Abzug des normalen Reststroms und des als konstant angesehenen Sauerstoffdiffusionsstroms. Die Meßpunkte dieses Versuchs lagen zwar nicht so akkurat auf einer Geraden wie im Normalfall, doch war die Reaktionsgeschwindigkeit gegenüber entsprechenden sauerstoffrei durchgeführten Versuchen nicht verändert. Berücksichtigt man vor allem, daß höchstens geringste Sauerstoffspuren unbemerkt auf eine Reaktion einwirken konnten, ist somit sichergestellt, daß eine Beeinflussung der Reaktion durch Sauerstoff unter den gwählten Versuchsbedingungen nicht möglich war.

d. Der Einfluß von Reaktionsendprodukten, Pufferkonzentrationen und Stearonaphthalinsulfonsäure auf die Reaktionsgeschwindigkeit

Zur Auffindung weiterer Gesetzmäßigkeiten der Ascorbinsäure/ Chinon-Reaktionen war auch der Einfluß der Reaktionsendprodukte auf die Umsetzungen zu untersuchen. Eine Beeinflussung wird vor allem dann stattfinden, wenn gleichzeitig mit einer normalen Umsetzung eine Rückreaktion abläuft. Als Reaktionsendprodukte waren die Hydrochinone der verwendeten Chinone, Dehydroascorbinsäure und besonders bei höheren

pH-Werten Dehydroascorbinsäure-Zersetzungsprodukte zu erwarten.

Zur Untersuchung dieser Einflüsse wurde zunächst eine Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion mit einem o-Xylohydrochinon-Zusatz und dann eine Umsetzung mit einem Überschuß der gesamten Endprodukte ausgeführt. Unter den normalen Versuchsbedingungen, d. h. im Acetatpuffer mit einem pH-Wert von 4,00 und einem zehnfachen Ascorbinsäureüberschuß bei Reaktionsbeginn, konnte durch einen o-Xylohydrochinonzusatz, der dreimal so groß war wie die im Reaktionsverlauf entstehende Hydrochinonmenge, keine wahrnehmbare Veränderung der Reaktionsgeschwindigkeit hervorgerufen werden.

Bei der Überprüfung des Dehydroascorbinsäureeinflusses wurde von einer präparativen Herstellung der Dehydroascorbinsäure Abstand genommen, da eine Reindarstellung einen erheblichen Aufwand erfordert. Es wurden deshalb Reaktionen in Lösungen durchgeführt, die durch eine Ascorbinsäure/Chinon-Vorreaktion bereits die gesamten Reaktionsendprodukte einschließlich der Dehydroascorbinsäure enthielten. Zur Herstellung wurden 2-millimolare o-Xylochinonlösungen unter den üblichen Versuchsbedingungen gerade mit so viel kristalliner Ascorbinsäure versetzt, daß der Chinongehalt auf die Anfangskonzentration normaler Versuche, d. h. auf 0,5 mMol pro Liter, abfiel. Mit diesen Chinonlösungen wurden dann Reaktionen mit zehnfachem Ascorbinsäureüberschuß ausgeführt. Als Reaktionsgeschwindigkeitskonstante wurde im Mittel k_1 = 0,805 min^{-1} gefunden. Gegenüber dem normalen Wert von k_1 = 0,809 min^{-1} lag dieser trotz eines mehrfachen Überschusses der Reaktionsendprodukte nur um 0,5 % zu niedrig, also innerhalb der normalen Fehlerbreite.

Da weder der Hydrochinonzusatz noch der Überschuß an Reaktionsendprodukten die Reaktionsgeschwindigkeit veränderten, war somit bestätigt, daß die Reaktionsendprodukte unter den gewählten Versuchsbedingungen den Ablauf der Ascorbinsäureoxydation durch Chinone nicht beeinflussen und mit einer Rückreaktion nicht zu rechnen ist.

Vorversuche zur Auffindung geeigneter Puffersubstanzen hatten ergeben, daß die Ascorbinsäureoxydationsgeschwindigkeit von den Konzentrationen der Puffer abhängig ist. Um den Grad dieser Geschwindigkeitsbeeinflussung kennen zu lernen, wurden Versuche mit wechselnden Acetatpuffer-Konzentrationen durchgeführt. Eine Verdoppelung der normalen Acetatpuffer-Konzentration (siehe Seite 19) hatte bei einem genau eingehaltenen pH-Wert von 4,00 eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit um 20 % zur Folge, eine Vervierfachung erhöhte die Geschwindigkeit insgesamt sogar um 50 %. Die pH-Konstanz wurde durch eine minimale Veränderung des Verhältnisses der Pufferkomponenten erreicht. Da auch diese Versuche in Gegenwart von Titriplex III abliefen, lassen sich die erhöhten Reaktionsgeschwindigkeiten nicht auf die Vermehrung von katalytisch wirksamen Schwermetallverunreinigungen zurückführen.

Um zu erfahren , ob auch andere Elektrolyte einen so starken Einfluß ausüben, wurden einige Reaktionslösungen bei normaler Acetatpufferkonzentration mit Natriumsulfat versetzt. Zur Aufrechterhaltung des pH-Wertes von 4,00 mußte auch hier der Essigsäureanteil des Puffers

geringfügig verändert werden. Bei einem Zusatz von 0,05 Mol Natriumsulfat pro Liter war die Geschwindigkeit um 6 % und bei einem Zusatz von 0,15 Mol pro Liter um 14 % erhöht. Die Auswirkungen dieser Elektrolytbeeinflussungen störten vor allem die auf Seite 61 beschriebenen Versuche zur Klärung der pH-Abhängigkeit der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen.

Auch der Einfluß der als Dämpfersubstanz für die polarographischen Strommaxima verwendeten Stearonaphthalinsulfonsäure auf die Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen war zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden einige Versuche mit und einige ohne Stearonaphthalinsulfonsäure durchgeführt. In Gegenwart von Titriplex III zeigte sich auch bei einer Vervierfachung der normalen Dämpferkonzentration keine Reaktionsbeeinflussungen. Nur in Abwesenheit eines Komplexbildners lag die Umsetzungsgeschwindigkeit bei besonders großen Dämpferkonzentrationen etwas zu hoch. Dies dürfte auf eine Schwermetallverunreinigung der Dämpfersubstanz zurückzuführen sein. Aus diesem Grunde wurde den Reaktionslösungen im allgemeinen nur bei anodischen Bestimmungen Stearonaphthalinsulfonsäure zugesetzt. Die Strommaxima der Chinone traten vielfach erst bei Konzentrationen über 1 mMol/Liter auf und störten wegen der Länge der Chinonstufen die Bestimmungen nicht.

e. Der Einfluß der Ascorbinsäurekonzentration auf die Reaktionsgeschwindigkeit

Die Reaktionslösungen der bisher ausgeführten kinetischen Versuche, bei denen die verschiedensten Einflüsse auf die Reaktionsgeschwindigkeit studiert wurden, enthielten alle die gleiche Ascorbinsäureanfangskonzentration. Mit den folgenden Untersuchungen sollte unter Konstanthaltung aller jener Einflüsse die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Ascorbinsäureüberschußkonzentration geklärt werden. Um auch weiterhin Reaktionen 1. Ordnung zu erhalten, war der molare Ascorbinsäureüberschuß mindestens zehnfach.

In Abb. 12 sind Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen mit verschiedenen Ascorbinsäureüberschußkonzentrationen in halblogarithmischer Darstellung aufgeführt. Wie zu erwarten war, liegen die Meßpunkte auf Geraden mit unterschiedlicher Neigung. Die Geschwindigkeitskonstanten dieser Reaktionen waren der Ascorbinsäureanfangskonzentration annähernd proportional, was auf eine Reaktion 2. Ordnung deutete.

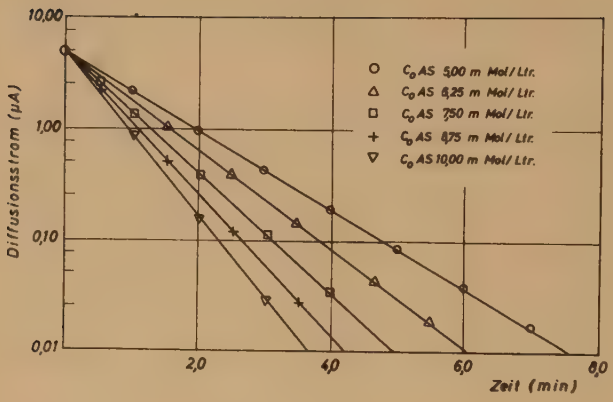


Abb. 12 Der Einfluß von Ascorbinsäureüberschußkonzentrationen auf Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen im Acetatpuffer bei pH 4,00. Chinondiffusionsstrom-Abnahme. c_0 o-Xylochinon: 0,50 mMol/Liter.

Läuft eine Reaktion 2. Ordnung bei konstanter Konzentration des einen Partners ab, so vereinfacht sich der rechnerische Ansatz zur Differentialgleichung einer Reaktion 1. Ordnung. In Anwendung auf die Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion ergibt sich bei einem Ascorbinsäureüberschuß:

$$RG = -\frac{dc_{Ch}}{dt} = \underbrace{k_2 \cdot c_{AS}}_{\text{konst.}} \cdot c_{Ch} \qquad (11)$$

$$RG = -\frac{dc_{Ch}}{dt} = k_1 \cdot c_{Ch} \qquad (12)$$

Hieraus folgt:

$$k_1 = k_2 \cdot c_{AS} \qquad (13)$$

Die Geschwindigkeitskonstanten dieser Reaktionen 1. Ordnung sind also der Ascorbinsäurekonzentration proportional.

In Tab. 6 sind zur Überprüfung der Beziehung (13) die nach dieser Gleichung errechneten k_2 -Werte der in Abb. 12 dargestellten Versuche angegeben. Die so erhaltenen k_2 -Werte lassen zwar ein geringes Ansteigen erkennen, aber dennoch kann man mit ziemlicher Sicherheit anneh-

men, daß die Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion nach der 2. Ordnung abläuft.

Tab. 6 Der Einfluß der Ascorbinsäureüberschußkonzentrationen auf die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der 1. und 2. Ordnung; Acetatpuffer pH 4,00.
c_o o-Xylochinon: 0,50 mMol/Liter.

$c_{o\,AS}$ (mMol/Ltr.)	k_1 (min^{-1})	k_2 ($k_1 / c_{o\,AS}$) ($min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$)
5,00	0,809	0,1618
6,25	1,027	0,1645
7,50	1,256	0,1674
8,75	1,476	0,1688
10,00	1,691	0,1691

Die Reproduzierbarkeit der einzelnen k_1 -Werte lag wiederum bei ± 1 %. Beim Vergleich der errechneten k_2 -Werte ist jedoch ein Fehler zu berücksichtigen, der sich durch die pH-Verschiebung des Puffers infolge wechselnder Ascorbinsäurekonzentrationen ergab. Zwar wurde bei Erhöhung des Ascorbinsäurezusatzes der Essigsäureanteil etwas vermindert, doch blieb eine Ungenauigkeit des einregulierten pH-Wertes von ± 1/100 einer pH-Einheit zu berücksichtigen, die sich bei der erheblichen pH-Empfindlichkeit der Reaktion auf die k_2 -Werte auswirken konnte. Es war dies eine Erklärung für das unregelmäßige Anwachsen der k_2 -Werte, nicht jedoch für den deutlich erkennbaren Gesamtanstieg mit der Ascorbinsäurekonzentration.

Nach Gleichung (13) (Seite 50) kann der k_1 -Wert nur dann konstant sein, wenn die Ascorbinsäurekonzentration im Verlauf der gesamten Reaktion unverändert bleibt. Ist der molare Ascorbinsäureüberschuß bei Reaktionsbeginn nur zehnfach, wird das natürlich noch nicht der Fall sein, und man hat im Verlaufe der Umsetzung mit einem merklichen Absinken der Ascorbinsäurekonzentration und der für kleine Reaktionsabschnitte geltenden k_1 -Werte zu rechnen. Mit wachsendem Ascorbinsäureüberschuß werden die Veränderungen der Ascorbinsäurekonzentrationen und damit die k_1 -Wertminderung während einer Reaktion abnehmen, so daß mit steigendem Ascorbinsäureüberschuß auch die k_2 -Mittelwerte größer werden und sich den auf anderen Wegen ermittelten k_2 -Werten nähern (siehe Seite 58). In Tab. 6 kommt das Anwachsen der k_2 -Werte deutlich zum Ausdruck.

In Tab. 7 ist die algebraische Auswertung einer Ascorbinsäure/ o-Xylochinon-Reaktion, die im Acetatpuffer bei pH 4,00 ablief, aufgeführt. Zur Demonstration der k_1—Wert-Veränderungen während der Reaktion enthält die Tabelle eine verhältnismäßig große Anzahl von Meßwerten. Um unter diesen Bedingungen eine gute k_1-Wert-Konstanz zu erhalten, wurde die Meßwertlaufzahl n eingeführt und die k_1-Werte für die sich überschneidenden Meßwertbereiche (n - 1) bis (n + 1) berechnet. Die k_1-Werte wurden in Anlehnung an die Beziehung (7) (Seite 40) nach Gleichung (14) ermittelt und als $k_{1\,gef.}$-Werte bezeichnet. In Tab. 7 erkennt man mit fortschreitender Umsetzung ein Absinken der $k_{1\,gef.}$-Werte.

$$k_{1\,gef.} = \frac{2{,}303}{t_{(n+1)} - t_{(n-1)}} \cdot \log \frac{c_{Ch(n-1)}}{c_{Ch(n+1)}} \qquad (14)$$

Tab. 7 Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion in Acetatpuffer bei pH 4,00.
$c_{o\,Ascorbins.}$: 5,00 mMol/Liter.

n	c_{Chinon} (mMol/Ltr.)	t (min)	$k_{1\,gef.}$ (min^{-1})	$\frac{c_{o\,AS}}{c_{AS}}$	$k_{1\,korr.}$ (min^{-1})
0	0,517	0,0	-	1,000	-
1	0,339	0,5	0,846	1,037	0,877
2	0,222	1,0	0,839	1,063	0,892
3	0,1465	1,5	0,824	1,080	0,890
4	0,0974	2,0	0,804	1,092	0,877
5	0,0656	2,5	0,799	1,099	0,879
6	0,0438	3,0	0,816	1,105	0,902
7	0,0290	3,5	0,815	1,108	0,903
8	0,0194	4,0	0,787	1,111	0,874
9	0,0132	4,5	0,792	1,112	0,881
10	0,00879	5,0	0,807	1,113	0,898
11	0,00589	5,5	0,805	1,114	0,897
12	0,00393	6,0	0,826	1,114	0,920
13	0,00258	6,5	0,804	1,115	0,896
14	0,00176	7,0	-	1,115	-

Mittelwerte: $k_{1\,gef.}$: 0,813 min^{-1}
$k_{1\,korr.}$: 0,891 min^{-1}

Nach SKRABAL (54) läßt sich dieser Abfall, der durch die Konzentrationsabnahme des zweiten Partners hervorgerufen wird, durch eine Korrektur aufheben, wenn die Reaktion nach der 2. Ordnung abläuft. Der gefundene k_1 -Wert wird hierzu mit dem Quotienten $c_{0\,AS}/c_{AS}$ multipliziert. Die Ascorbinsäurekonzentration c_{AS} wurde entsprechend den Ausführungen auf Seite 56 aus der Ascorbinsäurestartkonzentration und dem bereits erfolgten Chinonumsatz errechnet.

Der für einen kleinen Reaktionsabschnitt gültige $k_{1\,gef.}$ -Wert richtet sich entsprechend Gleichung (13) (Seite 50) nach der zu dieser Zeit vorhandenen Ascorbinsäurekonzentration c_{AS}.

$$k_{1\,gef.} = k_2 \cdot c_{AS} \qquad (15)$$

Nach Einführung des Korrekturfaktors ergibt sich:

$$k_{1\,korr.} = k_{1\,gef.} \cdot \left[\frac{c_{0\,AS}}{c_{AS}}\right] = k_2 \cdot c_{AS} \cdot \left[\frac{c_{0\,AS}}{c_{AS}}\right] \qquad (16)$$

$$k_{1\,korr.} = k_2 \cdot c_{0\,AS} \qquad (17)$$

Der korrigierte k_1 -Wert entspricht dann, wie aus Gleichung (17) in Verbindung mit Gleichung (11) (Seite 50) ersichtlich ist, dem k_1 -Wert einer Reaktion 1. Ordnung, die bei der konstanten Ascorbinsäurekonzentration $c_{0\,AS}$ abläuft.

Der k_1 —Wert zeigte nach der Korrektur keine fallende Tendenz mehr. Der Mittelwert mehrerer dieser Versuche lag bei $k_{1\,korr.} = 0{,}886$ min^{-1}. Der hieraus nach Gleichung (17) errechnete k_2 -Wert von $k_2 = 0{,}1752\ min^{-1} \cdot mMol \cdot Ltr.^{-1}$ stimmte gut mit den auf anderen Wegen errechneten mittleren k_2 -Werten überein (siehe Seite 58 und 60). Der aus dem mittleren $k_{1\,gef.}$ -Wert nach Gleichung (15) errechnete k_2-Wert wich natürlich erheblich von diesen Werten ab.

Der Ascorbinsäureeinfluß auf die o-Xylochinonreaktion wurde auch bei anderen pH-Werten untersucht. In Tab. 8 sind die nach Gleichung (13) (Seite 50) errechneten k_2 -Werte eingetragen. Die erforderlichen k_1-Werte wurden wie auch sonst graphisch ermittelt. Man erkennt die übliche Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Ascorbinsäureüberschußkonzentration mit einem Anwachsen der k_2 -Werte mit steigendem Ascorbinsäureüberschuß. Das o-Xylochinon war bei Licht- und Luftausschluß auch bei pH 1, 0 stabil. Die k_2 -Werte bestätigen, daß auch in diesem pH-Bereich die Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion nach der 2. Ordnung abläuft.

Da im Rahmen der vorliegenden Arbeit das Verhalten verschiedener Chinone gegenüber Ascorbinsäure zu klären war, wurde der Ascorbinsäureeinfluß nicht nur beim o-Xylochinon untersucht.

In Tab. 9 sind die Ergebnisse anderer Chinone eingetragen. Auch bei ihnen hatte die Ascorbinsäureüberschußkonzentration den üblichen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit.

Tab. 8 Der Einfluß der Ascorbinsäureüberschußkonzentration auf Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen bei verschiedenen pH-Werten.
$c_{0\ Chinon}$: 0,50 mMol/Liter.

Puffer	pH	k_2 $(k_1/c_{0\ AS})$ $(min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Liter)$	
		$c_{0\ AS}$: 5 mMol/Ltr.	$c_{0\ AS}$: 10 mMol/Ltr.
Acetatpuffer	4,00	0,1618	0,1691
Citratpuffer	3,00	0,0473	0,0488
Citratpuffer	2,00	0,0252	0,0259
Schwefelsäure/Natriumsulfat	1,00	0,0216	0,0223

Tab. 9 Der Einfluß der Ascorbinsäureüberschußkonzentration auf Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen im Acetatpuffer bei pH 4,00.
$c_{0\ Chinon}$: 0,50 mMol/Liter.

Chinon	k_2 $(k_1/c_{0\ AS})$ $(min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Liter)$	
	$c_{0\ AS}$: 5 mMol/Ltr.	$c_{0\ AS}$: 10 mMol/Ltr.
o-Xylochinon	0,1618	0,1691
m-Xylochinon	0,212	0,219
α-Naphthochinon	0,00998	0,01017
Adrenochrom	0,166	0,169

Beim m-Xylochinon und beim α-Naphthochinon lagen die Meßpunkte im log i_D/t-Diagramm auf einer Geraden wie beim o-Xylochinon (siehe Abb. 11, Seite 44). Die Adrenochromstartkonzentration war etwa 0,5 mMol/Liter.

Das Adrenochrom, dessen fermentative Herstellung auf Seite 45 beschrieben ist, war in Acetatpuffer bei pH 4,0 nicht völlig stabil, und sein Diffusionsstrom nahm infolge Zersetzung langsam ab. Die Zersetzungsgeschwindigkeit konnte in bezug auf die Geschwindigkeit der Ascorbinsäurereaktion vernachlässig werden. Im Zeitraum von 3 Minuten nahm der Diffusionsstron einer Adrenochromlösung be:

pH 4,0 um 1 % ab. In der gleichen Zeit wurden bei einer Ascorbinsäurekonzentration von 5 mMol pro Liter 90 % des Adrenochroms reduziert. Im halblogarithmischen Konzentrations/Zeit-Diagramm gab es aber dennoch eine Gerade, deren Neigung wie üblich der Ascorbinsäurekonzentration proportional war.

Auch das von der Firma BAYER, Leverkusen, zur Krebsbekämpfung entwickelte Benzochinonderivat "BAYER E 39 solubile" sollte in diese Versuchsreihe mit einbezogen werden. Die von BERG und KÖNIG (59) in saurem Medium festgestellte Unbeständigkeit wurde für pH 4,0 bestätigt. Deshalb wurde die Reaktion bei pH 6,00 ausgeführt, bei dem es stabil war. Die Reaktionen verliefen zwar nur bis zu einem 85%igen Umsatz nach einer Reaktion 1. Ordnung, doch war auch hier die Reaktionsgeschwindigkeit der Ascorbinsäureüberschußkonzentration proportional. Im Citratpuffer mit pH 6,00 ergab sich bei einer Ascorbinsäureanfangskonzentration von 5,00 mMol pro Liter die Geschwindigkeitskonstante $k_1 = 0,164\ min^{-1}$.

Schließlich wurden auch einige Versuche in stark saurer Lösung ausgeführt. Hierzu wurde die Ascorbinsäure/p-Benzochinon-Reaktion bei pH 1,00 in schwefelsaurer Natriumsulfat-Lösung untersucht. Es gab die übliche Proportionalität zwischen der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten k_1 und der Ascorbinsäurekonzentration. Bei einer Ascorbinsäureanfangskonzentration von 5,00 mMol pro Liter ergab sich für p-Benzochinon bei pH 1,00 als Geschwindigkeitskonstante $k_1 = 1,38\ min^{-1}$.

Bei pH-Werten über 7 wurden keine Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen untersucht, da in diesem pH-Bereich zahlreiche Chinone nicht mehr stabil sind und viele andere mit Ascorbinsäure zu schnell reagieren (vergleiche Seite 58).

Als Abschluß dieser Reihe war noch der Einfluß der Chinonanfangskonzentration auf die Reaktionsgeschwindigkeit zu untersuchen. Bei gleichbleibendem Ascorbinsäurezusatz stiegen im Acetatpuffer bei pH 4,00 mit fallender o-Xylochinon-Startkonzentration die k_1 -Werte etwas an, was wiederum mit unterschiedlichen Ascorbinsäureüberschußkonzentrationen zu erklären ist. Andere Besonderheiten konnten nicht beobachtet werden.

2. Reaktionen mit geringem Überschuß eines Reaktionspartners

a. Ascorbinsäure im Überschuß

Bei Untersuchungen der o-Xylochinonreduktion mit einem großen Ascorbinsäureüberschuß war durch Variation der Ascorbinsäurekonzentration festgestellt worden, daß die Umsetzungen im Prinzip nach einer Reaktion 2. Ordnung ablaufen. Für die Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten der 2. Reaktionsordnung waren jedoch die Reaktionen mit großem Ascorbinsäureüberschuß nicht geeignet. Es mußte somit nach Versuchsbedingungen gesucht werden, die eine bessere mathematische

Beschreibung des Reaktionsablaufs erlaubten. Dies war bei Umsetzungen mit einem geringen Ascorbinsäureüberschuß zu erwarten. Für diese Reaktionen ist die Differentialgleichung einer Reaktion 2. Ordnung in Ansatz zu bringen:

$$\frac{dx}{dt} = k_2 \cdot (a - x) \cdot (b - x) \qquad (18)$$

wobei a und b die Ausgangsmengen der beiden Reaktionspartner sind und x als Umsatzvariable den Formelumsatz und damit auch den Molumsatz der einzelnen Ausgangskomponenten angibt. Zur Integration muß die Gleichung umgeformt werden:

$$\frac{1}{(a-x)\cdot(b-x)} \cdot dx = \frac{1}{b-a} \cdot \left[\frac{1}{a-x} - \frac{1}{b-x}\right] \cdot dx = k_2 \cdot dt \qquad (19)$$

Die Integration ergibt:

$$k_2 \cdot (t_2 - t_1) = \frac{1}{b-a} \cdot \left[\ln \frac{a - x_1}{a - x_2} - \ln \frac{b - x_1}{b - x_2}\right] \qquad (20)$$

Um der polarographischen Analysenmethode zu entsprechen, wurden auch hier Mengenangaben auf die Volumeneinheit bezogen und in Molkonzentrationen angegeben. Bei gleichzeitiger Einführung des dekadischen Logarithmus ergibt sich als Geschwindigkeitskonstante einer Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion, wenn $a = c_{0\,AS}$ und $b = c_{0\,Ch}$ gesetzt wird:

$$k_2 = \frac{2{,}303}{(t_2 - t_1) \cdot (c_{0\,Ch} - c_{0\,AS})} \cdot \left[\log \frac{c_1\,AS}{c_2\,AS} - \log \frac{c_1\,Ch}{c_2\,Ch}\right] \qquad (21)$$

In Tab. 10 ist die Auswertung einer Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion, die im Acetatpuffer bei pH 4,00 ablief, angeführt. Auch unter diesen Bedingungen konnte während der Reaktion nur die Chinonkonzentration polarographisch bestimmt werden. Die Anfangskonzentration des Chinons ergab sich aus einer Bestimmung vor der Reaktion unter Berücksichtigung der Verdünnung beim Zulauf der Ascorbinsäurelösung. Da das entstehende Hydrochinon die polarographische Ascorbinsäurebestimmung störte, mußte die laufende Ascorbinsäurekonzentration aus der Ascorbinsäureanfangskonzentration, die sich aus der Einwaage ermitteln ließ, durch Abzug des bereits erfolgten Chinonumsatzes errechnet werden. Dies war möglich, da bei den Stöchiometrieversuchen eine quantitative Umsetzung festgestellt worden war und unter den gewählten Bedingungen mit jedem Mol Chinon genau ein Mol Ascorbinsäure aus der Reaktionslösung entfernt wurde.

Die in Tab. 10 angegebenen k_2-Werte wurden mit der von SKRABAL (60) besonders empfohlenen sogenannten "Schrittformel" nach Gleichung (21) berechnet. Bei der "Schrittformel" werden Geschwindigkeitskonstanten aus zwei aufeinanderfolgenden $c_{Ch}/c_{AS}/t$-Wertegruppen ermittelt. Bei

der "Sprungformel" setzt man dagegen stets die erste und eine laufende $c_{Ch}/c_{AS}/t$-Wertegruppe ein. Die zusammengehörigen Werte einer Gruppe werden mit einheitlichen Indizes bezeichnet.

Die "Schrittformel" hat den großen Vorzug, daß der erste Meßwert nicht überbewertet wird und daß ein "Gang" in den errechneten k-Werten, d. h. ein Fallen oder Steigen, besser als bei der werteausgleichenden "Sprungformel" erkennbar ist.

Aus den k_2 -Werten der Tab. 10 ist ersichtlich, daß eine Reaktion 2. Ordnung bis zu einem Umsatz von 99 % nachweisbar ist. Es gab Reaktionen, bei denen dies sogar bis zu 99,8 % möglich war. Die drei letzten herausfallenden Werte der Tab. 10 wurden bei der arithmetischen Mittelwertbildung nicht berücksichtigt.

Tab. 10 Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion im Acetatpuffer bei pH 4,00 (ausgewertet nach Gleichung (21)).

t (min)	c_{Ch} (mMol/Liter)	c_{AS} (mMol/Liter)	k_2 ($min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$)
0	0,528	1,6918	–
2	0,305	1,469	0,1751
4	0,1886	1,352	0,1709
6	0,1199	1,283	0,1720
8	0,0768	1,241	0,1772
10	0,0501	1,214	0,1741
12	0,0329	1,197	0,1746
14	0,0218	1,186	0,1729
16	0,0144	1,178	0,1753
18	0,00963	1,173	0,1707
20	0,00638	1,170	0,1758
22	0,00428	1,168	0,1708
24	0,00293	1,167	0,162
26	0,00200	1,166	0,164
28	0,00139	1,165	0,156

Mittelwert: $k_2 = 0,1736\ min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$

Obwohl die nach der "Schrittformel" ausgewerteten Reaktionsabschnitte verhältnismäßig klein waren, lagen die k_2 -Werte gut beieinander. Der Grund dieser Übereinstimmung lag wiederum in den genauen polarographischen Chinonbestimmungen gegen Reaktionsende, die durch die Erhöhung der Registrierempfindlichkeit des Polarographen ermöglicht wurden.

Die k_2 -Wertbestimmung erfolgte auch bei diesen Versuchen der Einfachheit halber häufig auf graphischem Wege. Setzt man in Gleichung (21) (Seite 56) $t_1 = O$ und $t_2 = t$ sowie $c_1 = c_o$ und $c_2 = c$, so geht sie nach Umformung in Gleichung (22) über und man erkennt, daß log (c_{AS}/c_{Ch}) der Zeit proportional ist.

$$k_2 \cdot t = \underbrace{\frac{2,303}{c_{o\,Ch} - c_{oAS}} \cdot \log \frac{c_{oAS}}{c_{oCh}}}_{\text{konst.}} - \underbrace{\frac{2,303}{c_{o\,Ch} - c_{o\,AS}} \cdot \log \frac{c_{AS}}{c_{Ch}}}_{\text{konst.}} \qquad (22)$$

Wird log (c_{AS}/c_{Ch}) im Diagramm gegen die Zeit aufgetragen, so entsteht nach Gleichung (22) eine Gerade, aus deren Neigung sich der k_2-Wert ermitteln läßt. Die graphisch bestimmten k_2 -Werte stimmten mit den rechnerischen praktisch überein. Der Mittelwert aller dieser Versuche lag bei 0,1747 $min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$ Die Reproduzierbarkeit der Mittelwerte einzelner Versuche lag bei $\pm 0,8$ %.

k_2 -Werte waren bereits bei den Reaktionen, die nach der 1. Ordnung abliefen, durch Variation des Ascorbinsäureüberschusses ermittelt worden (siehe Seite 53). Beim Vergleich entsprechender Versuche erkennt man, daß jene k_2 -Werte, wenn die Ascorbinsäureabnahme während der Umsetzung durch eine Korrektur berücksichtigt wurde, mit den in diesem Abschnitt direkt ermittelten übereinstimmen.

Aus korrigierten k_1 -Werten ergab sich als Mittelwert:

$$k_2 = 0,1772 \ min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$$

Auf direktem Wege wurde als Mittelwert gefunden:

$$k_2 = 0,1747 \ min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$$

Im Rahmen dieser Versuchsreihe wurden auch einige nach Formel (22) ausgewertete Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen bei anderen pH-Werten durchgeführt. Im Phosphatpuffer mit pH 6,00 ergab sich ein k_2 -Wert von 1,562 $min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$ und im Veronalpuffer mit pH 7,00 konnte ein k_2 -Wert von 3,83 $min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$ ermittelt werden. Damit war bewiesen, daß die Ascorbinsäure/o-Xylochinonreaktion auch im neutralen Medium nach der 2. Reaktionsordnung abläuft.

b. Chinon im Überschuß

Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten von Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen mit einem geringen o-Xylochinonüberschuß lassen sich ebenfalls mit der auf Seite 58 entwickelten Gleichung (22) errechnen. Bei der Auswertung derartiger Versuche zeigte sich jedoch, daß die Meßpunkte vor allem gegen Reaktionsende erheblich streuten und die Reproduzierbarkeit der ermittelten k_2 -Werte in der Größenordnung von ± 5 bis ± 10 % lag. Die so ermittelten k_2-Werte von Reaktionen im Acetatpuffer mit pH 4,00 gruppierten sich allerdings um den auch sonst gefundenen Wert von 0,175 $min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$ Man konnte deshalb annehmen, daß die Umsetzungen auch unter diesen Bedingungen nach den bisher gefundenen Gesetzmäßigkeiten ablaufen.

Sowohl die Ascorbinsäure- als auch die Chinonkonzentration geht in die k_2 -Wert-Berechnung ein. Für die Ungenauigkeiten der k_2-Werte ist die laufende Ascorbinsäurekonzentration verantwortlich, da sie der Hydrochinone wegen nicht direkt bestimmbar ist und durch Differenzbildung nach Gleichung (23) ermittelt werden muß.

$$c_{AS} = c_{o\,AS} - (c_{o\,Ch} - c_{Ch}) \qquad (23)$$

Gegen Reaktionsende führt ein geringer Fehler bei der Chinonbestimmung durch die Differenzbildung bei einem Chinonüberschuß zu einer erheblichen Verfälschung der errechneten Rest-Ascorbinsäurekonzentration.

Bei den im vorigen Abschnitt beschriebenen Versuchen mit einem Ascorbinsäureüberschuß machte sich eine ungenaue Chinonbestimmung bei der Berechnung der Ascorbinsäurekonzentration nach Gleichung (23) durch den Ascorbinsäureüberschuß kaum bemerkbar. Bei der Differenzbildung konnte in diesem Fall kein größerer Fehler entstehen, so daß sich bis zu einem 99%igen Umsatz brauchbare k_2 -Werte errechnen ließen.

3. Ascorbinsäure und Chinon im äquimolaren Verhältnis

In den vorangegangenen Abschnitten dieser Arbeit wurden zahlreiche Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen mit großem und mit geringem Ascorbinsäureüberschuß untersucht. In beiden Fällen konnte eine Reaktion 2. Ordnung festgestellt werden. Befinden sich beide Reaktionspartner im äquimolaren Verhältnis, läßt sich die Reaktion durch ein besonders einfaches Zeitgesetz beschreiben. Der Vollständigkeit halber wird auch hierfür ein Beispiel angeführt.

Die allgemeine Differentialgleichung für Reaktionen der 2. Ordnung (24) vereinfacht sich bereits im Ansatz zu Gleichung (25):

$$RG = -\frac{dc_{Ch}}{dt} = k_2 \cdot c_{AS} \cdot c_{Ch} \qquad (24)$$

$$RG = -\frac{dc_{Ch}}{dt} = k_2 \cdot c^2_{Ch} \qquad (25)$$

Die Integration ergibt:

$$\frac{1}{c_{Ch}} - \frac{1}{c_{0\,Ch}} = k_2 \cdot t \qquad (26)$$

Trägt man bei einer nach diesem Zeitgesetz ablaufenden Reaktion im Diagramm $1/c_{Ch}$ gegen die Zeit auf, so entsteht eine Gerade, aus deren Steigung sich k_2 errechnen läßt. In Abb. 13 wird die Gültigkeit dieser Beziehung für eine Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion nachgewiesen.

Der erforderliche Ascorbinsäurezusatz ergab sich aus der nach der Stickstoffbegasung gemessenen Chinonkonzentration. Im allgemeinen verliefen diese Reaktionen bis zu einem 90 bis 95%igen Umsatz nach dem Zeitgesetz (26). Für die in Abb. 13 dargestellte Reaktion wurde eine Geschwindigkeitskonstante von $k_2 = 0,1767\ min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$ errechnet. Als Mittelwert mehrerer Versuche ergab sich:

$$k_2 = 0,1769\ min^{-1} \cdot mMol^{-1} \cdot Ltr.$$

Die Reproduzierbarkeit der Werte einzelner Versuche lag bei ± 1,5 %.

Nach einem 95%igen Umsatz wichen die experimentellen Kurven in nicht reproduzierbarer Weise vom geradlinigen Verlauf ab. Hierfür dürften geringe Differenzen zwischen den Ascorbinsäure- und Chinonanfangskonzentrationen verantwortlich gewesen sein.

Die Übereinstimmung auch dieser k_2-Werte mit den unter anderen Bedingungen gefundenen vergleichbaren Geschwindigkeitskonstanten (siehe Seite 58) bestätigt erneut den Ablauf einer Reaktion 2. Ordnung.

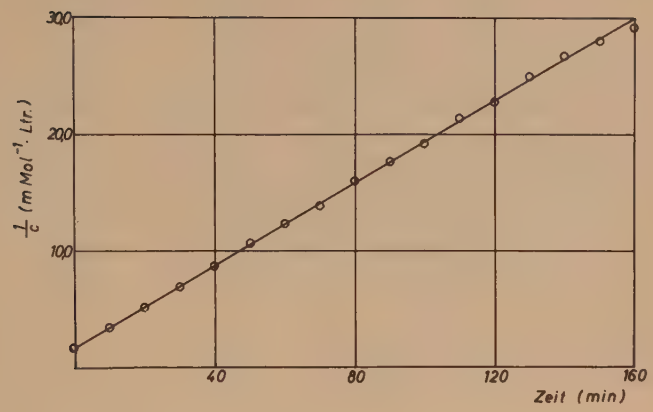


Abb. 13 Reaktion Ascorbinsäure/o-Xylochinon im äquimolaren Verhältnis; Acetatpuffer mit pH 4,00; Anfangskonzentration: 0,583 mMol/Ltr.; Konzentration nach 150 Minuten: 0,0357 mMol/Ltr.

4. Die pH-Abhängigkeit der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen

Versuche, die die pH-Abhängigkeit der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion klären sollten, hatten wenig Erfolg. Der Vollständigkeit halber sollen jedoch einige Einzelheiten mitgeteilt werden. Die starke Elektrolytempfindlichkeit dieser Reaktionen, die bereits auf Seite 48 nachgewiesen wurde, erschwerte die Untersuchungen erheblich.

Durch einheitliche Natriumacetatkonzentrationen und unterschiedliche Essigsäurezusätze ließen sich Acetatpuffer herstellen, die im Bereich von pH 3,6 bis 5,4 annähernd einheitliche Ionenkonzentrationen aufwiesen. Da jedoch die in diesen Puffern ausgeführten Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen keine Rückschlüsse auf die pH-Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit zuließen, wurde in einem größeren pH-Intervall nach entsprechenden Gesetzmäßigkeiten gesucht. Bei einem größeren pH-Intervall macht sich ein Elektrolyteinfluß natürlich besonders störend bemerkbar.

Bei gleichem pH-Wert wurden in verschiedenen Pufferlösungen völlig unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten gefunden. Sogar bei einheitlichen Ionenkonzentrationen gab es in Acetat- und Phthalatpuffern bei gleichem pH-Wert erhebliche Abweichungen. Um besser vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurden Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen in stark verdünnten Pufferlösungen mit einem

Überschuß eines indifferenten Elektrolyten durchgeführt. Die Pufferlösungen enthielten 0,1 Mol Kaliumperchlorat pro Liter und wurden durch Mischen von 1/100-molaren Lösungen ihrer Komponenten hergestellt. Die Pufferlösungen mit pH 1 enthielten etwas Überchlorsäure. In Abb.14 sind die in diesen Lösungen ermittelten k_2 -Werte in linearem und halblogarithmischem Maßstab gegen den pH-Wert aufgetragen. Die k_2 -Werte wurden nach Gleichung (13) (Seite 50) bei einem zehnfach molaren Ascorbinsäureüberschuß bestimmt. Die erheblichen Geschwindigkeitsunterschiede im pH-Bereich von 1 bis 7 konnten durch Variation der Ascorbinsäureüberschußkonzentration bei konstantem Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Molverhältnis zum Teil ausgeglichen werden. Auf eine Berücksichtigung der Ascorbinsäurekonzentrationsveränderungen während der Reaktionen nach Gleichung (16) (Seite 53) wurde verzichtet, da alle Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten in gleicher Weise beeinflußt werden und sich somit keine Ungenauigkeiten bei den Untersuchungen der pH-Abhängigkeit ergeben konnten.

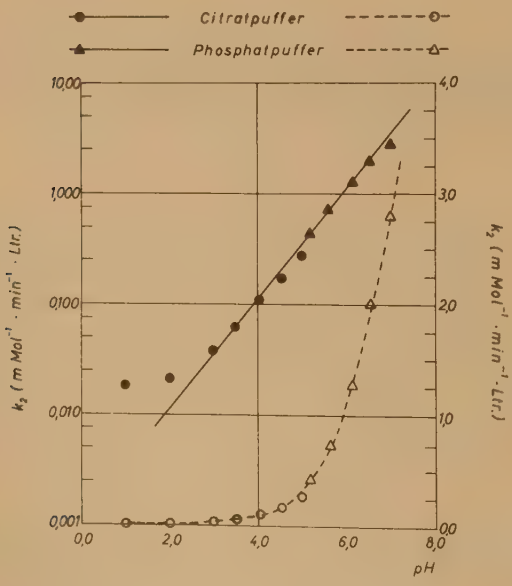


Abb. 14 pH-Abhängigkeit der Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion. (Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten 2. Ordnung im linearen und logarithmischen Maßstab aufgetragen.)

Die Geschwindigkeitskonstanten der Reaktionen in normalen Pufferlösungen streuten, obwohl die einzelnen Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten gut reproduzierbar waren, im log k_2/pH-Diagramm wesentlich stärker als die in Abb. 14 eingetragenen Werte. Die Geschwindigkeitskonstanten der in Kaliumperchloratlösungen durchgeführten Umsetzungen gaben zwar einen erheblich einheitlicheren Kurvenverlauf, jedoch blieb auch bei ihnen eine Unsicherheit infolge wechselnder Elektrolytzusammensetzung der Reaktionslösung bestehen. Das Prinzip der pH-Abhängigkeit war in allen Pufferlösungen gleich.

Im pH-Bereich von 3 bis 7 kann im halblogarithmischen Diagramm ein geradliniger Kurvenverlauf vermutet werden. Die k_2-Werte von pH 1 und pH 2 liegen so weit von der verlängerten Geraden ab, daß ein normaler Elektrolyteinfluß dafür nicht verantwortlich gemacht werden kann.

Die Steigung der in Abb. 14 gezeichneten Geraden entspricht einer Reaktion, deren Geschwindigkeitskonstante von der Wurzel der Wasserstoffionenkonzentration abhängt. Die Gleichung der Geraden lautet:

$$\log k_2 = A + z \cdot pH = A - z \cdot \log c_{H^+} \qquad (27)$$

$$k_2 = 10^A \cdot 10^{\log c_{H^+}^{-z}} = k_3 \cdot 10^{\log c_{H^+}^{-z}} \qquad (28)$$

$$k_2 = \frac{k_3}{c_{H^+}^{z}} \qquad (29)$$

Der Zahlenwert für den Anstieg z ist 1/2.

Man muß annehmen, daß die Gleichung (29) nur für einen kleinen pH-Bereich Gültigkeit besitzt. Weitere Versuche haben sicher nur dann Aussicht auf Erfolg, wenn sie in "elektrolytausbalancierten" Lösungen ausgeführt werden.

C. Diskussion der Versuchsergebnisse

Für die Untersuchung der Ascorbinsäureoxydation durch Chinone konnten natürlich nur einige Vertreter aus der großen Stoffklasse der Chinone ausgewählt werden. Diese Repräsentanten mußten leicht zugänglich sein, durften sich im Reaktionszeitraum nicht zersetzen, sollten Ascorbinsäure mit geeigneter Geschwindigkeit oxydieren und hatten ferner als Vertreter einer bestimmten Chinongruppe zu fungieren. Das o-Xylochinon entsprach diesen Forderungen am besten und wurde repräsentativ bei allen wichtigen Untersuchungen eingesetzt. Das p-Benzochinon war das Bindeglied zu den bisher in der Literatur beschriebenen Versuchen, das m-Xylochinon diente zum Vergleich mit dem o-Xylochinon, das ∝-Naphthochinon vertrat die 1.4-Naphthochinone, das ß-naphthochinonsulfonsaure Natrium galt als allgemeiner Vertreter der o-Chinone, das "BAYER E 39 solubile" war ein Beispiel für die therapeutisch verwendeten Chinone und das Adrenochrom interessierte als Oxydationsprodukt des physiologisch hochaktiven Adrenalins. Da alle diese Chinone mit Ascorbinsäure nach dem gleichen Reaktionsprinzip reagierten, war mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß sich auch viele andere Chinone mit Ascorbinsäure in gleicher Weise umsetzen.

Die für diese Arbeit entwickelte polarographische Meßanordnung hat sich gut bewährt. Durch die automatische Registriereinrichtung des Polarographen war eine fortlaufende Chinonbestimmung ohne Eingriff in das Reaktionsgeschehen während der gesamten Umsetzung möglich. Da sich auch geringe Chinonkonzentrationen durch Erhöhung der Registrierempfindlichkeit genau bestimmen ließen, konnte in vielen Fällen eine Überprüfung des Reaktionsgeschehens bis fast zum Ende der Umsetzung erfolgen. Ein besonderer Vorteil der Versuchsanordnung lag in der Möglichkeit, Polarograph und Meßzelle, die nur durch zwei stromführende Kabel verbunden werden, getrennt aufzustellen. Während die Reaktion in der Meßzelle unter Lichtausschluß wartungsfrei ablief, konnte der Polarograph in einem normal beleuchteten Raum bedient werden. Die Meßzelle selbst erfüllte alle an sie gestellten Forderungen.

Ein großer Nachteil der verwendeten Versuchsanordnung liegt in der Trägheit des Meßsystems. Reaktionen, die in einer Minute ablaufen, können nicht mehr untersucht werden. Bei so schnellen Umsetzungen folgt der Polarograph dem Diffusionsstromabfall nicht mehr mit der notwendigen Genauigkeit. Eine Aufhebung der Dämpfung ist jedoch wegen der Stromoszillationen, die durch die Quecksilbertropfen hervorgerufen werden, nicht möglich.

p-Benzochinon, ß-Naphthochinon und ß-naphthochinonsulfonsaures Natrium reagierten mit Ascorbinsäure so schnell, daß die Überprüfung der Stöchiometrie durch eine polarometrische Titration dieser Chinone mit einer Ascorbinsäuremaßlösung möglich war. Da Störungen der quantitativen Umsetzung durch Dehydroascorbinsäure-Zersetzungsprodukte vor allem bei höheren pH-Werten zu erwarten waren, wurden

die Bestimmungen bei pH 6 bis 7 in einer Natriumsulfat-Leitsalzlösung ausgeführt. Der Fortgang der Titration ließ sich am Abfall des Chinondiffusionsstroms verfolgen. Da der registrierte Strom durch keine Reaktionsprodukte gestört wurde, war eine eindeutige Endpunktserkennung möglich.

Die ascorbinometrischen und jodometrischen Titrationen stimmten innerhalb der zu erwartenden Fehlerbreite gut überein. Die Mittelwerte beider Methoden lagen nie mehr als 1 % auseinander. Die ascorbinometrisch-polarometrische Titration tritt damit bei Chinonen mit starkem Oxydationsvermögen ebenbürtig neben die in der Literatur mehrfach beschriebene jodometrische Chinonbestimmung. Die polarometrische Titration kann im Gegensatz zur visuell-jodometrischen auch in stark gefärbten Lösungen ausgeführt werden.

Als Vertreter der mit Ascorbinsäure langsamer reagierenden Chinone wurde das o-Xylochinon mit wechselnden Ascorbinsäuremengen zur Reaktion gebracht und je nach Molverhältnis am Reaktionsende die Chinon- oder Ascorbinsäure-Überschußkonzentration kontrolliert. Bei allen untersuchten pH-Werten, d.h. bei pH 4.0, 5.0, 6.0 und 7.0, konnte sowohl bei einem Chinon- als auch bei einem Ascorbinsäureüberschuß eine quantitative Umsetzung unter Austausch von 2 Oxydationsäquivalenten beobachtet werden. Der molare Chinon- und Ascorbinsäureverbrauch sowie die Hydrochinonbildung lagen nie mehr als 2 % auseinander. Nebenreaktionen waren unwahrscheinlich, da die Endkomponenten stets die erwarteten polarographischen Stufen und Halbstufenpotentiale aufwiesen.

Überraschenderweise setzte bei höheren pH-Werten, bevorzugt im Phosphatpuffer, sofern ein Chinonüberschuß vorhanden war, nach beendeter Hauptreaktion eine Nachreaktion ein. Die Chinonkonzentration nahm ab und eine annähernd äquimolare Hydrochinonstufe entstand. Diese Folgereaktion setzte zunächst langsam ein und ging im Phosphatpuffer bei pH 7 in eine Reaktion nullter Ordnung über. Im Bereich von 90 bis 10 % des Restchinons der ersten Umsetzung, d.h. der Ascorbinsäureoxydation, war die Reaktionsgeschwindigkeit entsprechend der nullten Reaktionsordnung konstant. Da Titriplex III keinen Einfluß hatte, dürfte eine Schwermetallkatalyse nicht in Frage kommen. Es war auffallend, daß p-Benzochinon, das mit Ascorbinsäure wesentlich schneller als o-Xylochinon reagiert, im Phosphatpuffer praktisch die gleiche Nachreaktionsgeschwindigkeit wie das o-Xylochinon erzielt. Im Veronalpuffer mit gleichem pH-Wert verliefen bei beiden Chinonen die Nachreaktionen wesentlich langsamer.

Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß nicht die Chinone, sondern die Ascorbinsäureoxydationsprodukte die Geschwindigkeit der Nachreaktion bestimmen. Übereinstimmende Merkmale der Dehydroascorbinsäurezersetzung und der hier beobachteten Nachreaktion machten es wahrscheinlich, daß Zersetzungsprodukte der Dehydroascorbinsäure für die Sekundärreaktion verantwortlich sind. Bei pH 4 findet praktisch keine Dehydroascorbinsäurezersetzung und praktisch keine Nachreaktion statt. Mit steigendem pH-Wert nimmt sowohl die Dehydroascorbinsäure-Zersetzungsgeschwindigkeit als auch die Geschwindigkeit der

Nachreaktion zu. Genau wie die Nachreaktion ist nach MOLL und WIETERS (5) die Dehydroascorbinsäure-Zersetzung nicht nur vom pH-Wert, sondern auch von der Art der Puffersubstanzen abhängig.

Bei der Titration von alkalischen Ascorbinsäurelösungen mit Kaliumtrijodid- bzw. 2.6-Dichlorphenolindophenollösungen liegen die Verhältnisse ähnlich. Auch hier tritt ein Mehrverbrauch an Oxydationsmitteln ein. Nach H. v. EULER und B. EISTERT (27) ist für diesen Mehrverbrauch die 2.3-Diketogulonsäure verantwortlich, die durch Hydrolyse aus Dehydroascorbinsäure entsteht. Ihre Bildungsgeschwindigkeit nimmt mit steigendem pH-Wert zu. Man kann somit annehmen, daß die zusätzlichen Chinonreduktionen ebenfalls von der 2.3-Diketogulonsäure hervorgerufen werden.

Bei den Titrationen ist keine Störung durch einen zusäztlichen Chinonverbrauch beobachtet worden. Dies dürfte damit zu erklären sein, daß die Titrationen nicht in Phosphatlösungen ausgeführt wurden und im allgemeinen in wenigen Minuten beendet waren.

Die vorstehenden Untersuchungen bestätigen, daß während der kinetischen Versuche mit o-Xylochinon keine störenden Nebenreaktionen zu erwarten sind. Die beobachteten Nachreaktionen setzten praktisch erst nach Beendigung der Hauptreaktion ein.

Die Stöchiometrie der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen wurde bei vier verschiedenen Chinonen, d. h. bei p-Benzochinon, ß-Naphthochinon, ß-naphthochinon-4-sulfonsaurem Natrium und o-Xylochinon, in schwach saurem bzw. neutralem Medium überprüft. Da in keinem Fall eine Abweichung von der quantitativen Umsetzung beobachtet werden konnte, bei der Dehydroascorbinsäure und ein Hydrochinon entstehen, ist mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß auch eine große Zahl anderer Chinone, sofern sie in der betreffenden Lösung stabil sind, zunächst in gleicher Weise mit Ascorbinsäure reagieren. Besonders bei höheren pH-Werten wird man allerdings bei einem Chinonüberschuß im Anschluß an diese Reaktion mit einer Nachreaktion zwischen Ascorbinsäureoxydationsprodukten und dem betreffenden Chinon rechnen müssen.

Die Versuche zur Auffindung kinetischer Gesetzmäßigkeiten wurden nach Möglichkeit mit einem großen Ascorbinsäureüberschuß durchgeführt. Unter diesen Bedingungen liefen die Umsetzungen nach einer Reaktion 1. Ordnung ab. Da die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Reaktion 1. Ordnung (k_1) konzentrationsunabhängig sind, konnte auf Eichwertbestimmungen verzichtet werden, und die k_1-Werte wurden aus der zeitlichen Veränderung der Chinondiffusionsströme ermittelt. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten dieser Versuche waren also unabhängig von der Ungenauigkeit der Eichwerte.

Schlecht reproduzierbare Reaktionsgeschwindigkeiten führten zu der Vermutung, daß die Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion ähnlich wie die Ascorbinsäureautoxydation durch Spuren von Schwermetallionen katalysiert wird. Diese Annahme konnte durch Versuche mit einem Kupferzusatz bestätigt werden. Die katalytische Wirkung der Metallionen ließ sich genau wie bei der Luftoxydation durch Komplexbildung mit äthylendiamintetraessigsaurem Natrium aufheben. In Anlehnung an die

Theorie der Autoxydation kann man annehmen, daß bei Anwesenheit von Kupfer(II)-ionen Ascorbinsäure nicht nur durch Chinonmoleküle, sondern auch durch Kupfer(II)-ionen oxydiert wird. Mit großer Wahrscheinlichkeit werden die dabei entstehenden Kupfer(I)-ionen durch Chinone wieder zu Kupfer(II)-ionen aufoxydiert und stehen dann zur erneuten Ascorbinsäureoxydation zur Verfügung. Eine teilweise Inaktivierung des Kupfers durch Reduktion zum metallischen Zustand ist nicht auszuschließen.

Auch andere Chinone wurden bei einem Ascorbinsäureüberschuß nach einer Reaktion 1. Ordnung reduziert. Da Ausnahmen nicht beobachtet wurden, kann man annehmen, daß zahlreiche weitere Chinone mit Ascorbinsäure in gleicher Weise reagieren.

Sauerstoff mindert die Genauigkeit der polarometrischen Chinonbestimmungen. Aus diesem Grunde wurden praktisch alle Untersuchungen unter Reinstickstoff ausgeführt. Durch besondere Versuche konnte jedoch bestätigt werden, daß Luftsauerstoff in schwach saurer Lösung keinen Einfluß auf die Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktion hat. Es ist deshalb anzunehmen, daß die bei diesen Modellversuchen gefundenen Gesetzmäßigkeiten auch unter normalen Bedingungen, d. h. in Gegenwart von Luft, Gültigkeit haben.

Da weder die Ascorbinsäureoxydationsprodukte noch die Hydrochinone einen Einfluß auf den Reaktionsverlauf ausübten, war gesichert, daß praktisch keine Rückreaktion stattfindet.

Durch Variation des Ascorbinsäureüberschusses stellte sich heraus, daß die Reaktionsgeschwindigkeiten der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen sowohl der Chinon- als auch der Ascorbinsäurekonzentration proportional sind und es sich somit um Reaktionen 2. Ordnung handelt. Eingehende Untersuchungen der Reaktionszeitgesetze wurden in schwach saurem Medium mit o-Xylochinon durchgeführt. Für die Ascorbinsäureoxydation durch o-Xylochinon galt in schwach saurem Medium bei allen Molverhältnissen die Differentialgleichung der Reaktionen 2. Ordnung:

$$RG = -\frac{dc_{Ch}}{dt} = k_2 \cdot c_{AS} \cdot c_{Ch} \qquad (24)$$

Bei einem großen Ascorbinsäureüberschuß war das Produkt $(k_2 \cdot c_{AS})$ annähernd konstant und die Reaktion lief praktisch nach der 1. Ordnung ab. Bei einem geringen Ascorbinsäure- oder o-Xylochinonüberschuß blieb die Gleichung (24) unverändert und bei äquimolaren Konzentrationsverhältnissen vereinfachte sie sich zu

$$RG = -\frac{dc_{Ch}}{dt} = k_2 \cdot c_{Ch}^2 \qquad (25)$$

Die nach diesen drei Beziehungen errechneten mittleren k_2-Werte lagen nicht mehr als 1,5 % auseinander, wenn bei dem nach der 1. Reaktionsordnung errechneten Wert durch eine Korrektur die Ascorbinsäu-

reabnahme während der Umsetzung berücksichtigt wurde. Die bei einem Chinonüberschuß bestimmten Werte waren aus analytischen Gründen mit einer größeren Ungenauigkeit behaftet.

Versuche mit wechselndem Ascorbinsäureüberschuß waren natürlich nur dann vergleichbar, wenn durch kleine Korrekturen an den Pufferzusammensetzungen die unterschiedlichen Ascorbinsäureeinflüsse auf die Pufferkapazität berücksichtigt wurden. Hatten Eichpuffer und Reaktionslösung den gleichen pH-Wert, so waren die mit Hilfe des Präzisions-pH-Meters der Firma POLYMETRON, ZÜRICH, gemessenen pH-Werte auf ± 1/100 einer pH-Einheit genau.

Nachdem bei o-Xylochinon der Nachweis einer Reaktion 2. Ordnung im gesamten pH-Bereich von 1 bis 7 für jede volle pH-Einheit erbracht war, wurde die Reaktionsordnung bei den anderen Chinonen stichprobenartig durch Variation des Ascorbinsäureüberschusses überprüft. Nach einer Reaktion 2. Ordnung reagierten bei pH 4 m-Xylochinon, α-Naphthochinon und Adrenochrom, bei pH 1 p-Benzochinon und bei pH 6 "BAYER E 39 solubile". Die Auswahl der pH-Werte richtete sich aus meßtechnischen Gründen nach den Reaktionsgeschwindigkeiten.

Eine genaue Bestimmung der pH-Abhängigkeit der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktion gelang nicht. Eine der Hauptursachen hierfür dürfte in der erheblichen Elektrolytempfindlichkeit der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen zu suchen sein. Pufferlösungen verschiedener Substanzen, die sowohl im pH-Wert als auch in der Ionenkonzentration übereinstimmen, verursachen unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeiten. Im pH-Bereich von 3 bis 7 wurde zwar eine annähernd lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten und dem pH-Wert gefunden, doch war die Abhängigkeit nicht eindeutig (siehe Abb. 14, Seite 62). Die Werte streuten um eine Gerade, deren Steigung einer Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten entsprach, die der Wurzel der Wasserstoffionenkonzentration umgekehrt proportional ist. Danach ergab sich für den pH-Bereich von pH 3 bis 7 folgende Differentialgleichung:

$$RG = -\frac{dc_{Ch}}{dt} = k_3 \cdot \frac{c_{AS} \cdot c_{Ch}}{c_{H^+}^{1/2}} \qquad (30)$$

Es besteht jedoch der dringende Verdacht, daß die Beziehung den wirklichen Verlauf in bezug auf die pH-Abhängigkeit nur annähernd beschreibt.

D. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Auffindung von Gesetzmäßigkeiten, nach denen die physiologisch wichtige Ascorbinsäure mit Chinonen reagiert. Zahlreiche Chinone treffen unter den verschiensten Bedingungen auf Ascorbinsäure und überführen sie in Dehydroascorbinsäure. In einigen Fällen dürfte es sich um ein rein zufälliges Zusammentreffen handeln, bei dem die Ascorbinsäure zerstört wird, in anderen Fällen wird durch eine entsprechende Reaktion die Entfernung von nicht gewünschten Chinonen erreicht.

Für die Beobachtung der Reaktionsvorgänge wurde eine polarographische Versuchsanordnung geschaffen. Polarographische Messungen hatten den Vorzug, daß ohne Eingriff in das Reaktionsgeschehen fortlaufende Konzentrationsbestimmungen durchgeführt werden konnten. Um bei den Untersuchungen der Kinetik einen schnellen Start zu ermöglichen, wurde eine besondere Meßzelle entwickelt. In dieser Meßzelle ließen sich bei Reaktionsbeginn Ascorbinsäure- und Chinonlösungen in kürzester Zeit bei konstanter Temperatur sowie unter Licht- und Luftausschluß miteinander vermischen. Eine besondere Vorrichtung sorgte für die Entfernung des in die Lösung tropfenden metallischen Quecksilbers.

Vor der Suche nach Reaktionszeitgesetzen wurde zunächst der stöchiometrische Verlauf der Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen geklärt. In stark sauren Lösungen hatten FLORENCE und GACS (24) eine quantitative Umsetzung zwischen Ascorbinsäure und p-Benzochinon festgestellt. Wie diese Reaktion in schwach saurem und neutralem Medium verläuft, war mit Sicherheit nicht bekannt. Auch die Stöchiometrie der Ascorbinsäureoxydation durch andere Chinone war nicht geklärt.

Das stöchiometrische Verhalten von Chinonen, die Ascorbinsäure mit großer Geschwindigkeit oxydieren, ließ sich durch polarometrische Titrationen klären. Dabei stellte sich heraus, daß p-Benzochinon, ß-Naphthochinon und ß-naphthochinon-4-sulfonsaures Natrium im pH-Bereich von 6 bis 7 mit Ascorbinsäure unter Titrationsbedingungen durch Austausch von 2 Oxydationsäquivalenten quantitativ reagieren.

Die ascorbinometrischen Bestimmungen einiger Chinone verliefen so glatt, daß diese Titration im Rahmen einer späteren Arbeit zu einer allgemein gültigen analytischen Methode ausgebaut werden soll.

Zur Untersuchung langsamerer Reaktionen wurden bekannte Ascorbinsäure- und Chinonmengen zusammengegeben und am Reaktionsende die Konzentrationen der Überschußkomponenten polarographisch überprüft. Als Repräsentant für alle Chinone, die sich titrimetrisch nicht bestimmen ließen, wurde das o-Xylochinon ausgewählt. Es zeichnet sich durch leichte Reindarstellung, hohe Beständigkeit und gut meßbare Reaktionsgeschwindigkeiten bei Umsetzungen mit Ascorbinsäure aus. Da Nebenreaktionen vor allem bei höheren pH-Werten zu erwarten sind, wurden auch diese Stöchiometrieversuche in schwach saurem und neutralem Medium ausgeführt.

Im gesamten pH-Bereich von pH 4 bis 7 liefen die Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen quantitativ ab, wobei sich Dehydroascorbinsäure und o-Xylohydrochinon bildeten. Wurden die Reaktionen mit einem o-Xylochinonüberschuß ausgeführt, so nahm besonders bei höheren pH-Werten nach Abschluß der Hauptreaktion die Chinonkonzentration langsam weiter ab. Im Phosphatpuffer bei pH 7 war die Geschwindigkeit dieser Nachreaktionen besonders groß, und die Chinonabnahme verlief nach einer Reaktion nullter Ordnung.

Da p-Benzochinon und o-Xylochinon Ascorbinsäure ganz verschieden schnell oxydieren, in der Nachreaktion jedoch praktisch die gleiche Geschwindigkeit erzielten, kann man annehmen, daß für die Folgereaktion nicht die Chinone, sondern die Dehydroascorbinsäure oder deren Zersetzungsprodukte verantwortlich sind. Es wird vermutet, daß die Nachreaktion durch die bei der Dehydroascorbinsäure-Zersetzung entstehende 2.3-Diketogulonsäure hervorgerufen wird.

Bei allen untersuchten Chinonen wurde in schwach saurem und neutralem Medium primär eine quantitative Umsetzung mit Ascorbinsäure gefunden, da Haupt- und Nachreaktionen in allen Fällen nacheinander abliefen. In einer späteren Arbeit sollen die Sekundärreaktionen weiter untersucht werden.

Auch für die kinetischen Untersuchungen war das o-Xylochinon die wichtigste Modellsubstanz. Kupferionen hatten einen erheblichen Einfluß auf die Geschwindigkeit der Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen. Im Acetatpuffer mit einem pH-Wert von pH 4 lag die Kupfergrenzkonzentration, die gerade eben noch eine nachweisbare katalytische Wirkung ausüben konnte, bei 10^{-8} Mol pro Liter. Äthylendiamintetraessigsaures Natrium, das mit vielen Metallionen stabile Komplexe bildet, war in der Lage, die Kupferkatalyse völlig zu unterbinden. Um unvermeidbare Schwermetallspuren in der Reaktionslösung auszuschalten, wurden alle kinetischen Versuche mit einem Zusatz dieses Komplexbildners ausgeführt.

Die Reaktionen des o-Xylochinons mit Ascorbinsäure wurden unter den verschiedensten Bedingungen durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, daß im gesamten pH-Bereich von 1 bis 7 die Reaktionsgeschwindigkeiten der Ascorbinsäure- und der Chinonkonzentration proportional sind und es sich somit um Reaktionen 2. Ordnung handelt. In einem Probefall bei pH 4,00 konnten sogar unter verschiedensten Konzentrationsverhältnissen, d. h. mit großem oder kleinem Ascorbinsäureüberschuß bzw. bei äquimolaren Verhältnissen, gut übereinstimmende Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten erzielt werden.

Auch alle anderen Chinone, die untersucht wurden, reagierten mit Ascorbinsäure nach der 2. Reaktionsordnung. Zu den überprüften Chinonen gehörten: p-Benzochinon, m-Xylochinon, α-Naphthochinon, Adrenochrom und das Krebstherapeuticum "BAYER E 39 solubile".

Die Wasserstoffionenkonzentration und auch der Elektrolytgehalt der Reaktionslösungen haben einen wesentlichen Einfluß auf Ascorbinsäure/Chinon-Reaktionen. Mit steigendem pH-Wert nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit ganz allgemein zu. Der Elektrolyteinfluß er-

schwerte die Untersuchung der pH-Abhängigkeit erheblich. Es wird vermutet, daß im pH-Bereich von 3 bis 7 die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Ascorbinsäure/o-Xylochinon-Reaktionen der Wurzel der Wasserstoffionenkonzentration umgekehrt proportional sind. Da sich jedoch die bei verschiedenen pH-Werten untersuchten Reaktionen des Elektrolyteinflusses wegen nur annähernd vergleichen lassen, ist es durchaus möglich, daß die pH-Abhängigkeit in Wirklichkeit einer anderen, allerdings ähnlichen Beziehung gehorcht.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Ascorbinsäureoxydation durch Chinone. Es war selbstverständlich, daß die Versuche nur mit einigen Vertretern aus der großen Stoffklasse der Chinone ausgeführt werden konnten. Sogar mit diesen Repräsentanten ließen sich nicht sämtliche Kombinationen der verschiedenen Versuchsbedingungen überprüfen. Von Fall zu Fall war zu entscheiden, ob die speziellen Ergebnisse eine Verallgemeinerung erlaubten. Eine Allgemeingültigkeit erschien dann wahrscheinlich, wenn bei allen untersuchten Chinonen ohne Ausnahme einheitliche Ergebnisse erzielt wurden.

Auf Grund der Erfahrungen dieser Arbeit kann man annehmen, daß sich eine große Zahl von Chinonen im pH-Bereich von 1 bis 6 mit Ascorbinsäure unter Bildung ihrer Hydrochinone und Dehydroascorbinsäure quantitativ umsetzen und die Reaktionen in bezug auf Ascorbinsäure und die Chinone nach der 2. Ordnung ablaufen. In einigen Fällen dürfte sich bei höheren pH-Werten vor allem bei einem Chinonüberschuß eine Nachreaktion zwischen dem Chinon und Ascorbinsäureoxydationsprodukten anschließen.

Eine Voraussetzung für quantitative Reaktionen zwischen Ascorbinsäure und Chinonen ist natürlich die Beständigkeit beider Komponenten unter den Reaktionsbedingungen. Diese Forderung wird infolge der Luftempfindlichkeit von Ascorbinsäure- und der Lichtempfindlichkeit von Chinonlösungen nicht immer erfüllt sein.

Literatur

1) G. H. BOURNE, Vitamin C in the animal cell, in L. V. HEILBRUNN und F. WEBER, Protoplasmatologia, Springer-Verlag, Wien 1957, S. 78 ff.

2) H. METZNER, Die Ascorbinsäure in der Pflanzenzelle, in L. V. HEILBRUNN u. F. WEBER, Protoplasmatologia, Springer-Verlag, Wien 1957, S. 13, 64.

3) H. v. EULER u. B. EISTERT, Chemie und Biochemie der Reduktone und Reduktonate, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1957, S. 1.

4) H. V. EULER u. H. HASSELQUIST, Chem. Ber. 88, 991 (1955).

5) T. MOLL u. H. WIETERS, E. MERCK's Jahresbericht 50, Darmstadt 1937, S. 65.

6) L. SIEFFERT, Z. Vitaminforsch. 17, 52 (1946).

7) H. BORSOOK, H. W. DARVENPORT, C. E. P. JEFFREYS u. R. C. WARNER, J. biol. Chemistry 117, 237 (1937).

8) A. WEISSBERGER u. J. E. LU VALLE, J. Amer. Chem. Soc. 65, 1934 (1943) und 66, 700 (1944).

9) H. SCHÜMMER, Biochem. Z. 304, 1 (1940)

10) E. S. BARRON, R. H. DE MEIO u. F. W. I. KLEMPERER, J. biol. Chemistry 112, 625 (1936).

11) L. F. FIESER u. M. FIESER, Lehrbuch der organ. Chemie, Verlag Chemie, Weinheim 1954, S. 817.

12) F. L. CRANE, Y. HATEFI u. R. L. LESTER, Biochim. biophysica acta 25, 220 (1957).

13) R. L. LESTER u. F. L. CRANE, J. biol. Chemistry 234, 2169 (1959).

14) R. A. MORTON, G. M. WILSON, J. S. LOWE u. W. M. F. LEAT, Biochem. J. 68, 16P (1958). R. A. MORTON, Biochem. J. 73, 2 (1959).

15) O. HOFFMANN-OSTENHOFF, Experientia 3, 137 (1947).

16) A. L. KURSANOW, Pharmazie, Erg.-Bd., H. 1, (1954), S. 37.

17) A. WEISSBERGER, D. S. THOMAS u. J. E. LU VALLE, J. Amer. Soc. 65, 1489 (1943).

18) A. T. MARKH, Biokhimiya 21, 636 (1956), ref. C. A. 51, 9955.

19) R. MARCUSE, Dtsch. Apotheker-Ztg. 98, 962 (1958).

20) V. P. CALCINS u. H. A. MATILL, J. Amer. Chem. Soc. 66, 339 (1944).

21) C. GOLUMBIC, Oil and Soap 23, 184 (1946).

22) O. S. PRIVETT u. F. W. QUACKENBUSH, Amer. Oil. Chem. Soc. 31, 321 (1954).

23) H. ERLBACH u. H. OHLE, Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 555 (1934).

24) G. FLORENCE u. N. GACS, Arch. phys. biol. 66, Suppl. 43 (1943).

25) L. ERDEY u. Mitarbeiter, Z. analyt. Chem. 134, 412 (1952); 136, 109 (1952); 147, 70 (1955); 157, 166 (1957); 162, 180 (1958); 163, 6 (1958).

26) Z. JACH, J. PAČOVSKY u. M. SVACH, Z. analyt. Chem. 154, 185 (1957).

27) H. v. EULER u. B. EISTERT, Chemie und Biochemie der Reduktone und Reduktonate, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1957, S. 221, 223.

28) F. GSTIRNER, Chemisch-physikalische Vitaminbestimmungsmethoden, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1951, S. 150.

29) E. SILVERBLATT, J. Amer. Chem. Soc. 65, 137 (1943).

30) K. SEELERT, Diplomarbeit, Math. -Nat. Fak. Freie Universität Berlin, 1958.

31) S. ONO, M. TAKAGI u. T. WASA, J. Amer. Chem. Soc. 75, 4369 (1953).

32) P. ZUMAN, Collect. czechoslov. chem. Commun. 19, 1140 (1954).

33) L. F. FIESER u. M. I. ARDAO, J. Amer. Chem. Soc. 78, 774 (1956).

34) C. ESTABLE, M. I. ARDAO u. L. F. FIESER, J. Amer. Chem. Soc. 77, 4942 (1955).

35) H. J. TEUBER u. W. RAU, Chem. Ber. 86, 1036 (1953).

36) K. WIESNER, Biochem Z. 313, 48 (1942).

37) F. KUBOWITZ, Biochem. Z. 292, 221 (1937); 299, 32 (1938).

38) M. GRAUBARD u. M. NELSON, J. biol. Chemistry 112, 135 (1935).

39) NIETZKI, Liebigs Ann. Chem. 215, 169 (1882).

40) E. SCHLUTIUS J. prakt. Chem. 142, 54 (1935).

41) The Pharmacopeia of the United States of America, XVI. Ausg., 1960, S. 65.

42) Vorschrift von VALEUR in HOUBEN-WEYL, Methoden der Organischen Chemie, Bd. 2, Georg Thieme Verlag Stuttgart 1953, S. 480.

43) W. PREISS, Z. Unters. Lebensmittel 67, 144 (1934).

44) H. FURMANN u. J. H. WALLACE, J. Amer. Chem. Soc. 52, 1443 (1930).

45) A. SKRABAL, Homogenkinetik, Verlag von Th. Steinkopff, Leipzig 1941, S. 52.

46) M. v. STACKELBERG, Polarogr. Arbeitsmethoden, Verlag Walter de Gruyter, Berlin 1950, S. 315.

47) V. Capitanio u. A. Pittoni, Atti Reale Ist. Veneto Sci. mat. natur. 100 II 1940, 209.

48) E. KODIČEK u. K. WENIG, Nature 142, 35 (1938).

49) K. WIESNER, Chem. Listy 38, 91 (1944).

50) D. M. H. KERN, J. Amer. Chem. Soc. 76, 1011 (1954).

51) R. WURMSER, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales 116, 583 (1934).

52) F. POUPĚ, Collect. czechoslov. chem. Commun. 12, 225 (1947).

53) I. M. KOLTHOFF u. A. LANGER, J. Amer. Chem. Soc. 62, 211 (1940).

54) A. SKRABAL, Homogenkinetik, Verlag von Th. Steinkopff, Leipzig 1941, S. 64.

55) R. HUISGEN, Ausführung kinetischer Versuche, in HOUBEN-WEYL, Methoden der Organischen Chemie, Bd. 3/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1955, S. 128.

56) L. MAPSON, Biochem. J. 35, 1332 (1941).

57) W. GRAB, Klin. Wschr. 27, 430 (1949).

58) H. JÄGER, Pharmazie 3, 536 (1948).

59) H. BERG u. K. H. KÖNIG, Z. Krebsforsch. 62, 495 (1958).

60) A. SKRABAL, Homogenkinetik, Verlag von Th. Steinkopff, Leipzig 1941, S. 12.

Lebenslauf

Am 11. März 1928 wurde ich als Sohn des ao. Professors für Psychiatrie und Neurologie Dr. Hans Seelert und seiner Ehefrau Katharina geb. Medow in Berlin geboren. Von 1934 bis 1938 besuchte ich die Volksschule in Berlin-Buch und von 1938 bis 1945 die Eosander-Oberschule in Berlin-Pankow. Als Abschluß erhielt ich den Reifevermerk.

Von 1945 bis 1947 war ich Apotheker-Praktikant in der Adler-Apotheke in Berlin-Buch und in der Linden-Apotheke in Berlin-Niederschönhausen. Im Oktober 1947 bestand ich die pharmazeutische Vorprüfung. Vom Oktober 1947 bis zum April 1948 besuchte ich die Paulsen-Oberschule in Berlin-Steglitz und bestand am 15. April 1948 das Abitur. Anschließend arbeitete ich als vorexaminierter Apotheker in der Apotheke zur Eiche in Berlin NO.

Im Frühjahr 1949 erhielt ich die Zulassung zum Pharmaziestudium an der Freien Universität Berlin und bestand im Frühjahr 1952 das pharmazeutische Staatsexamen. Die Approbation als Apotheker erhielt ich am 14. Mai 1952. Anschließend begann ich mit dem Chemiestudium und bestand im Frühjahr 1953 die Diplomchemiker-Vorprüfung. In meiner Diplomarbeit, die ich unter der Leitung von Herrn Professor Dr. K. Vetter vom Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft, Berlin-Dahlem, anfertigte, befaßte ich mich mit polarographischen Untersuchungen der Ascorbinsäure-Autoxydation. Die Diplomprüfung in Chemie bestand ich im Sommer 1958.

Seit 1950 bin ich Assistent am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin. Von 1950 bis 1955 war ich Hilfsassistent, 1955 wurde ich mit der Wahrnehmung der Stelle eines wissenschaftlichen Assistenten beauftragt, und 1958 wurde ich zum wissenschaftlichen Assistenten ernannt.

Mit der Ausarbeitung dieser Dissertation, die unter der Anleitung von Herrn Professor Dr. G. Schenck im Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin entstand, begann ich im Herbst 1958.